

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



Magdalena Stuchlíková

Velikost genomu v evoluci švábů
Genome size in the evolution of cockroaches

Diplomová práce

Školitel: Mgr. Petr Janšta, Ph.D.

Konzultanti: Mgr. Zuzana Kotyková Varadínová, Mgr. Tomáš Urfus, Ph.D.

Praha, 2020

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 10. srpna 2020

Magdalena Stuchlíková

Poděkování:

V první řadě chci poděkovat svému školiteli Petru Janšovi a konzultantům Zuzaně Kotykové Varadínové a Tomáši Urfusovi za trpělivost, cenné rady a všechnen čas, který mi v průběhu psaní této práce a celého magisterského studia věnovali.

Děkuji také všem, kdo svými sběry a soukromými chovy přispěli k rozšíření palety druhů švábů chovaných na fakultě, a tudíž ve značné míře poskytli i materiál pro mou práci (jmenovitě jsou to Zuzana Kotyková Varadínová, Michael Kotyk, Petr Šípek, František Šťáhlavský, Pavel Just, František Jůna, Jiří Hromádka a Nicolas Rousseaux).

Děkuji Romče Urfusové a Honzovi Ptáčkovi za pomoc při orientaci v laboratoři a při cytometrických nesnázích.

Velký dík patří mé rodině, a to hlavně rodičům, kteří mě podporovali po celou dobu studia a kteří mě vždy nechávali vybrat si svoji cestu a dělat v životě to, co mě baví.

Děkuji všem skvělým lidem, které jsem měla to štěstí potkat během studia na Přírodovědecké fakultě, za inspirativní rozhovory u piva, krásné dny v terénu, a především za přátelství, která, jak doufám, přetrvají navždy. To se týká hlavně studentů i vyučujících z katedry zoologie (zejména oddělení entomologie) a také všech bývalých i současných organizátorů Bioseznamováku.

Kromě toho děkuji i svým biologii nepostiženým přátelům za trpělivé snášení mých výkladů o kdejaké havěti.

A nakonec děkuji Davidovi, bez jehož psychické opory i praktické pomoci by tato práce pravděpodobně neměla šanci vzniknout.

Abstrakt:

Velikost genomu nebo také obsah jaderné DNA je vlastnost, která se nesmírně liší napříč živými organismy, přičemž neexistuje vztah mezi velikostí genomu a komplexitou organismu. Udávána je obvykle jako tzv. C-hodnota buď v počtech párů bází nebo jako hmotnost DNA v pikogramech. Soubor nevyřešených otázek ohledně mechanismů ovlivňujících velikost genomu a vztahů velikosti genomu s dalšími vlastnostmi organismů je znám také jako *C-value enigma*. Je známo, že velikost genomu pozitivně koreluje s velikostí buněk a negativně s rychlostí vývoje a dělení buněk. U holometabolního hmyzu byla také navržena maximální hranice haploidní velikosti genomu 2 pg.

Přestože je dnes popsán přibližně jeden milion druhů hmyzu, velikost genomu je známá jen pro pouhý zlomek z nich. Tato práce si proto klade za cíl rozšířit dataset dosud známých velikostí genomu hmyzu o co největší počet druhů švábů (Blattodea). Dalším cílem je pak porovnat výsledky se známou fylogenezí a také porovnat rozdíl velikosti genomu mezi pohlavími.

Pro stanovení velikosti genomu byla využita průtoková cytometrie, což je rychlá, jednoduchá a efektivní metoda, vhodná také ke studiu ploidie a dalších buněčných vlastností.

Klíčová slova: velikost genomu, C-hodnota, průtoková cytometrie, evoluce hmyzu, švábi, Blattodea

Abstract:

Genome size or nuclear DNA content is a trait which varies greatly among living organisms, with no apparent relationship between genome size and organismal complexity. It is usually described using the C-value as either a number of base pairs or picograms of DNA. Unresolved questions regarding mechanisms influencing genome size and relationships between genome size and other organismal traits are together known as the C-value enigma.

Genome size is known to positively correlate with cell size and negatively with developmental and cell division rate. A maximum constraint of 2 pg has also been proposed for haploid genome sizes of holometabolous insects.

Despite the fact that there are about one million described insect species, genome sizes are only known in a fraction of them. This thesis thus aims to extend the dataset of known insect genome sizes by as many species of cockroaches (Blattodea) as possible. Another aim is to compare results with known phylogeny and also to compare difference in genome size between sexes.

Flow cytometry was used for genome size estimations, which is a rapid, simple and effective method, also suitable for study of ploidy levels and other cellular characteristics.

Key words: genome size, C-value, flow cytometry, insect evolution, cockroaches, Blattodea

Obsah

1	Úvod.....	1
1.1	Velikost genomu	1
1.2	Metody studia velikosti genomu.....	3
1.2.1	Průtoková cytometrie	3
1.2.1.1	Stanovení absolutní velikosti genomu	5
1.2.2	Další metody stanovení velikosti genomu.....	6
1.3	Švábi (Blattodea)	6
2	Cíle práce.....	10
3	Metodika.....	11
3.1	Hmyzí materiál	11
3.2	Průtoková cytometrie	12
3.3	Vyhodnocování cytometrických analýz.....	13
3.4	Analýza dat	14
4	Výsledky.....	15
4.1	Přehled velikostí genomu švábů	15
4.2	Rozdíl mezi samci a samicemi.....	30
4.3	Velikost genomu švábů a fylogeneze	34
4.3.1	Závislost velikosti genomu na nadčeledi	34
4.3.2	Závislost velikosti genomu na podčeledi	35
4.3.3	Rozdíly v rámci podčeledí.....	38
4.3.5	Vnitrodruhové rozdíly	39
5	Diskuse	42
5.1	Úskalí cytometrie hmyzu	42
5.1.1	Pohlaví.....	42
5.1.2	Nekompletní databáze	42
5.1.3	Pojmy	43
5.1.5	Výběr standardů.....	44
5.1.6	Sekundární metabolity	45
5.2	Rozdíl mezi samci a samicemi.....	46
5.3	Velikost genomu a fylogeneze.....	47
5.3.1	Oxyhaloinae.....	50

5.4	Variabilita v rámci druhů	50
5.5	Srovnání výsledků s literaturou	52
6	Závěr	56
7	Seznam použité literatury	57

1 Úvod

1.1 Velikost genomu

Velikost genomu čili obsah jaderné DNA v buňce nereplikované gametické buňky daného organismu popisuje takzvaná C-hodnota (*C-value*). Rozlišovány jsou také pojmy 1C-hodnota (haploidní), 2C-hodnota (diploidní), případně C_x-hodnota (pro monoploidní sadu chromozomů) (Greilhuber et al., 2005). C-hodnotu je možné udávat buď v počtech párů bází (Mbp = megapárů bází) nebo jako hmotnost DNA v pikogramech (pg), přičemž převod mezi těmito dvěma jednotkami můžeme uskutečnit jednoduše pomocí vzorce $1 \text{ pg} = 978 \text{ Mbp}$ (Doležel et al., 2003).

Již počátky výzkumu v této oblasti v první polovině minulého století odhalily ohromnou diverzitu ve velikostech genomu mezi různými druhy organismů. Brzy začalo být jasné, že neexistuje jednoznačný vztah mezi komplexitou organismu a velikostí jeho genomu. Pro ilustraci zmiňme například skutečnost, že 2C-hodnota u člověka se pohybuje okolo 6,5 pg (Doležel et al., 2003), zatímco u některých koryšů řádu Amphipoda přesahuje i 100 pg (Rees et al., 2007). Historicky se o tomto fenoménu mluvilo jako o tzv. C-value paradoxu, později o něco přiléhavěji jako o C-value enigmě. Nejedná se jen o jeden nevyřešený problém, ale v podstatě o celý soubor otázek, týkajících se evolučních důvodů a mechanismů vzniku relativně malých či velkých genomů a také vlastností, s kterými velikost genomu souvisí (Gregory, 2001a).

Pozitivní korelace velikosti genomu a velikosti buněk byla zjištěna u rostlin (Price et al., 1973, Beaulieu et al., 2008), obratlovců (Szarski, 1976, Gregory, 2001b) včetně člověka (Gillooly et al., 2015) i u bezobratlých živočichů (Gregory et al., 2000). Na nižší taxonomické úrovni však tento vztah platit nemusí, jak ukazují například Starostová et al. (2008). Negativní vztah naopak existuje mezi velikostí genomu a rychlostí vývoje a také rychlostí dělení buněk, vzhledem k pomalejší mitóze a meióze (Gregory, 2001a, Bennett, 1971, Hidalgo et al., 2017). Není překvapivé, že nejmenší genomy (tvořené hlavně protein-kódující DNA) najdeme u prokaryot (Gregory a DeSalle, 2005), bakterie rodu *Mycoplasma* se díky svému miniaturnímu genomu a extrémní jednoduchosti staly modelovými organismy v honbě za tzv. minimálním genomem (Hutchison et al., 2016).

Nejmenší zjištěný genom u eukaryot náleží parazitické mikrosporidii *Encephalitozoon intestinalis* (2C = 0,0047 pg /Corradi et al., 2010/) a naopak největší jednoděložné rostlině *Paris*

japonica z čeledi kýchavicovitých (Melanthiaceae) ($2C = 304,46$ pg /Pellicer et al., 2010/). Prvenství mezi živočichy drží bahník východoafrický (*Protopterus aethiopicus*, $2C = 284,1$ pg /Pedersen, 1971/), následovaný bahníkem americkým a některými ocasatými obojživelníky (Gregory, 2020).

Přehled velikostí genomu u živočichů poskytuje online databáze *Animal Genome Size Database* (Gregory, 2020). V současné době zahrnuje údaje o 6222 druzích, z čehož více než polovinu tvoří obratlovci. Ze skupiny Hexapoda zde najdeme 1345 záznamů (druhů je vzhledem k duplicitám méně), z toho 11 druhů švábů (dalších 45 druhů švábů měřil Kelly, /2018/ v rámci své diplomové práce). Bohužel informace nelze do databáze volně přidávat a poslední informace byly správcem doplněny v roce 2018 (a to pouhé 2 údaje). Od té doby byla publikována řada dalších prací s novými daty (například Sadílek et al., 2019b, Gandhi Gracy et al., 2019, Zhang et al., 2019, Driscoll et al., 2020, del Mar Ochoa-Saloma et al., 2020, Oziolor et al., 2019), takže v tuto chvíli není databáze kompletní. I přesto je zřejmé, že u drtivé většiny živočichů není velikost genomu dosud známá a je zde velký prostor pro další výzkum, obzvláště u bezobratlých živočichů a konkrétně hmyzu, jehož druhová bohatost je obrovská (Stork, 2018). U hmyzu se předpokládá určité omezení velikosti genomu v souvislosti s proměnou dokonalou. Ve stádiu kukly totiž dochází k masivní přestavbě tkání a velký genom by mohl být překážkou rychlému buněčnému dělení. Původně navržená hranice 2 pg (Gregory, 2002) pro holometabolní hmyz ale zřejmě není nepřekonatelná, jak dokazují některá data týkající se například brouků (Normark, 1996, Hanrahan a Johnston, 2011). Je pravdou, že zatím největší známé hmyzí genomy skutečně patří druhům s proměnou nedokonalou (například saranče *Podisma pedestris* – $2C = 34,8$ pg podle Westerman et al., 1987) a naopak nejmenší můžeme najít u některých zástupců dvoukřídlého hmyzu ($2C < 0,2$ pg podle Cornette et al., 2015). Malý genom je však vlastní i některým mšicím (např. $2C = 0,36$ pg u *Eoessigia longicauda* podle Cornette et al., 2015), které patří mezi hmyz hemimetabolní. Zde tedy v omezení velikosti genomu zřejmě hrály roli jiné faktory jako rychlý životní cyklus a drobná velikost těla (Gregory, 2002).

Z hlediska struktury má pochopitelně na velikost genomu obrovský vliv množství přítomné nekódující repetitivní DNA, zejména transpozonů (Kidwell, 2002, Elliott a Gregory, 2015, Maumus et al., 2015). Za zvětšení genomu bývá často zodpovědná polyploidizace (zkoumaná zejména u rostlin, ale důležitá také v evoluci obratlovců /Kasahara, 2007/ a dalších skupin). Po polyploidizační události však obvykle v evoluci následuje opětovná redukce, ztráta genů a přestavba genomu (Wendel, 2000, Ma a Gustafson, 2005) a dochází k procesu diploidizace,

tedy návratu k diploidnímu stavu genomu. Následkem těchto procesů je obtížné detekovat polyploidii u tzv. paleopolyploidů, jelikož se jejich genomy jeví jako diploidní (Wolfe, 2001). Na velikost genomu mají zjevně v různých skupinách organismů vliv různé faktory, které mohou působit různě silně a v mnoha případech zřejmě i protichůdně. Podobně jako u jiných vlastností organismů je tak velikost genomu výsledkem mozaiky složitých evolučních procesů, jejichž rozkrývání rozhodně není jednoduché. V mnoha ohledech je tedy velikost genomu stále záhadou – v první řadě už tím, že u mnoha organismů ji zatím neznáme.

Kromě prohloubení našich vědomostí o vlastnostech daného organismu má znalost velikosti genomu i praktické využití, například při plánování celogenomového sekvenování. Informace o obsahu DNA lze aplikovat i při determinaci některých druhů nebo pohlaví jedinců.

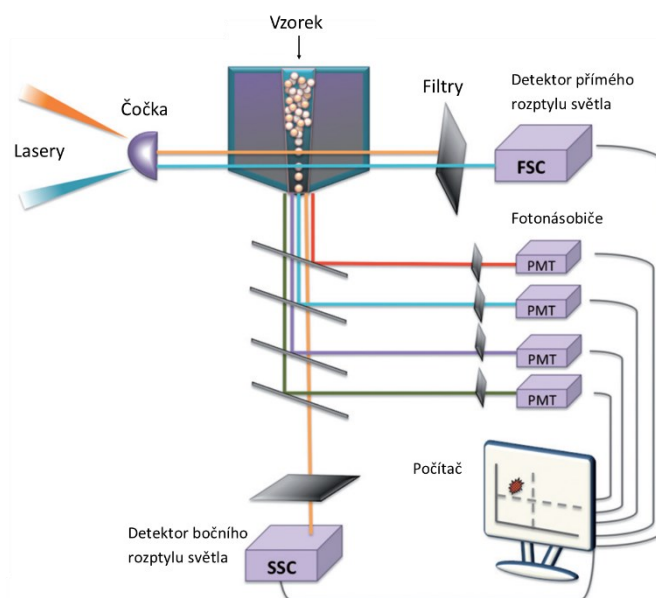
1.2 Metody studia velikosti genomu

1.2.1 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie (*flow cytometry*, FCM) je metoda, s jejíž pomocí lze třídit částice (buňky, buněčná jádra, chromozomy) a analyzovat jejich vlastnosti. Analyzované částice jsou značeny pomocí protilátek nebo barveny fluorescenčními barvivy a v průtokové komůrce cytometru jsou pomocí tzv. hydrodynamické fokusace soustředěny do úzkého pohybujícího se svazku. Následně jsou ozářeny zdrojem excitačního záření (ten tvoří lasery,

diody, nebo poněkud zastaralejší rtuťové výbojky /Suda, 2011/). Optická soustava poté zaznamenává rozptyl světla a emitovanou fluorescenci a tyto informace jsou převáděny do digitální a následně grafické podoby (Adan et al., 2016) (viz Obrázek 1).

Využití průtokové cytometrie jsou rozmanitá a pohybují se od složitých analýz například v biomedicinském výzkumu a imunologii, kdy je sledováno mnoho parametrů zkoumaných buněk (Macey, 2007), po jednodušší aplikace, mezi které patří například stanovení absolutní velikosti genomu, stanovení ploidie, studium hybridizace nebo zjišťování poměru AT/GC bází



Obrázek 1 – Zjednodušené schéma průtokového cytometru. Převzato z Adan et al. (2016) a upraveno.

(Kron et al., 2007). Tímto způsobem je průtoková cytometrie využívána zejména v botanice a zoologii. Přehledem různých využití cytometrie pro studium hmyzu jsem se zabývala již ve své bakalářské práci, proto zde nezabíhám do přílišných detailů a případné zájemce o problematiku odkazuji na zmíněnou práci (Průtoková cytometrie a její využití ke studiu hmyzu /Stuchlíková, 2017/).

Výhody metody spočívají zejména v její jednoduchosti, rychlosti a relativně nízkých nákladech. Nenáročný a rychlý je většinou jak samotný proces měření, tak příprava vzorků – samozřejmě s ohledem na konkrétní aplikaci a použitou metodologii, například při měření velikosti genomu se pohybujeme v řádu minut na jeden vzorek (Cournault a Aron, 2008), což nám umožňuje analyzovat i desítky vzorků denně (Suda et al., 2007). S optimálně seřízeným cytometrem lze navíc dojít k poměrně přesným výsledkům a vzhledem k možnosti rychlé analýzy velkého počtu buněk jsou tyto výsledky i statisticky robustní (Suda, 2011).

Jako každá metoda má i cytometrie některé nevýhody, mezi které patří zejména vysoká pořizovací cena samotného přístroje. Ten je navíc třeba udržovat v dobré kondici pravidelným seřizováním a čištěním, aby nedocházelo k nežádoucím odchylkám (Macey, 2007, Suda, 2011). Kromě toho je nevýhodou této metody i skutečnost, že není možná vizuální kontrola měřených částic (Doležel et al., 2007a).

Určitým omezením je nutnost použití co nejčerstvějšího materiálu (Doležel a Bartoš, 2005). Při terénním sběru hmyzu je včasné dopravení živých jedinců do příslušné laboratoře často nerealistickým úkolem, zvláště pokud se jedná o druhy náročné na podmínky prostředí nebo druhy výrazně krátkověké. Občas jsou využívány i různé způsoby fixace živočišného materiálu (Gregory, 2005, Panzera et al., 2006), častěji je však tento postup aplikován při měření velikosti genomu pomocí denzitometrie (Hardie et al., 2002). V botanické praxi lze často s úspěchem použít i materiál sušený (Suda a Trávníček, 2006, Schönschwetter et al., 2007). Poměrně dobrých výsledků se dá dosáhnout i s mraženým materiálem, vzorky by pak ovšem měly být připravovány na ledu (Hanrahan a Johnston, 2011, Sadílek et al., 2019).

Přestože práce s cytometrem a vyhodnocování analýz samozřejmě vyžaduje určitou zkušenost, lze říci, že oproti například denzitometrii (*Feulgen densitometry*, viz níže) zahrnuje pracovní postup méně kritických okamžiků a metoda je tak méně náchylná k chybám (Doležel et al., 1998, Greilhuber a Baranyi, 1999, Greilhuber, 2008).

Některá konkrétní úskalí cytometrie hmyzu však rozeberu také v diskusi.

1.2.1.1 Stanovení absolutní velikosti genomu

V zoologii se průtoková cytometrie nejhojněji využívá právě ke zjištění absolutní velikosti genomu. K tomuto účelu nejčastěji používaným fluorescenčním barvivem je propidium jodid (PI), který se neselektivně vmezeřuje mezi báze DNA (tj. je interkalární). Podobně funguje také poměrně často využívaný ethidium bromid (EtBr), který je ale o něco toxičtější (Suda, 2011). Jistou nevýhodou tohoto typu interkalárních barviv je skutečnost, že se váží i k RNA, kterou je proto třeba odstranit za pomoci RNázy.

Mezi často využívané fluorochromy patří také DAPI (4',6-diamidin-2-fenylindol), které se ovšem váže selektivně k AT bohatých oblastem DNA. Z tohoto důvodu není DAPI (a další fluorochromy vázající se selektivně, jako je DIPI, Hoechst, chromomycin a další) vhodné ke stanovení absolutní velikosti genomu, jelikož rozdíl v poměru AT/GC bází mezi genomem standardu a zkoumaného organismu může vést k výrazně nepřesnému výsledku (Doležel et al., 1992).

Konkrétní hodnotu velikosti genomu měřeného vzorku je možné získat porovnáním s velikostí genomu vhodného referenčního standardu. Téměř bez výjimky se dnes používá standardizace interní, čili vzorek i standard jsou připravovány a měřeny současně (Greilhuber, 2008) a na výsledném histogramu je porovnána intenzita jejich fluorescence.

Vybraný standard by měl splňovat několik klíčových podmínek, z nichž nejzásadnější je samozřejmě známá a stabilní velikost genomu (bez vnitrodruhové variability). K dispozici bychom měli mít co nejvíce informací o struktuře daného genomu, v ideálním případě by se tedy mělo jednat o genom osekvenovaný a anotovaný (Doležel a Greilhuber, 2010). Velikost genomu by navíc měla být podobná ale ne stejná jako předpokládaná velikost genomu studovaného vzorku (Roux et al., 2003). V případě příliš podobných velikostí dochází k překryvu píků histogramu (analýza je tudíž obtížná až nemožná) a v případě příliš velkého rozdílu může utrpět přesnost analýzy. V praxi občas není jednoduché předem odhadnout alespoň přibližnou velikost genomu zkoumaného objektu a je tedy třeba postupovat metodou pokus-omyl. Dále by měl být standard snadno dostupný, tedy dobře pěstovatelný či chovatelný, nákladnější možnost pak představují komerčně nabízené standardy (kuřecí erytrocyty, lidské lymfocyty apod.).

Výběr standardu tudíž není ani zdaleka triviálním úkolem, a proto se k této problematice vrátím ještě v diskusi.

1.2.2 Další metody stanovení velikosti genomu

Kromě průtokové cytometrie samozřejmě existují i další možnosti, jak stanovit obsah DNA. V úplných začátcích výzkumu bylo v tomto oboru využito například principů fluorometrické analýzy (Hinegardner, 1971) nebo reasociační kinetiky (Palmer et al., 1994).

Postupně získala převahu již výše zmíněná denzitometrie za využití Feulgenova barvení a analýzy obrazu (*Feulgen Densitometry* a *Feulgen Image Analysis Densitometry*, také FIAD), což je i dnes často využívaný postup. Na rozdíl od průtokové cytometrie, která pracuje se suspenzí jader, se v denzitometrii provádí roztěr tkáně na sklíčko. Vzorek je fixován, poté hydrolyzován kyselinou chlorovodíkovou a obarven za pomoci Schiffova činidla (fuchsin a hydrogensířičitan sodný). Celý tento proces se nazývá Feulgenova reakce a výsledkem je navázání barviva na aldehydy přítomné v biologickém materiálu. Takto připravený vzorek je mikroskopicky analyzován a je vypočítána optická hustota (*optical density*) jednotlivých jader. Průměrná optická hustota vzorku je pak porovnána s optickou hustotou standardu o známé velikosti genomu (Hardie et al., 2002).

Mezi méně frekventovanými metodami můžeme zmínit třeba mikrospektrofotometrii (Jimenez et al., 2010) či qPCR (Gregory et al., 2013). Počet párů bází samozřejmě zjistíme i při osekvenování celého genomu (*whole genome sequencing*), nicméně jak tuší každý, kdo se s touto problematikou někdy setkal, dosažení skutečně kompletní sekvence nepřestává být problematickým úkolem. Samotný proces sekvenování i skládání výsledné sekvence (*genome assembly*) komplikuje přítomnost repetitivní DNA (Treangen a Salzberg, 2012), a proto v dostupných genomových sekvencích stále existují mezery a nepřesnosti. Je tedy výhodnější znát velikost genomu již před samotným sekvenováním, jelikož se od ní odvíjí časová i finanční náročnost a poskytuje nám i představu o tom, jak dlouhá by konečná sekvence měla být (Li et al., 2019).

1.3 Švábi (*Blattodea*)

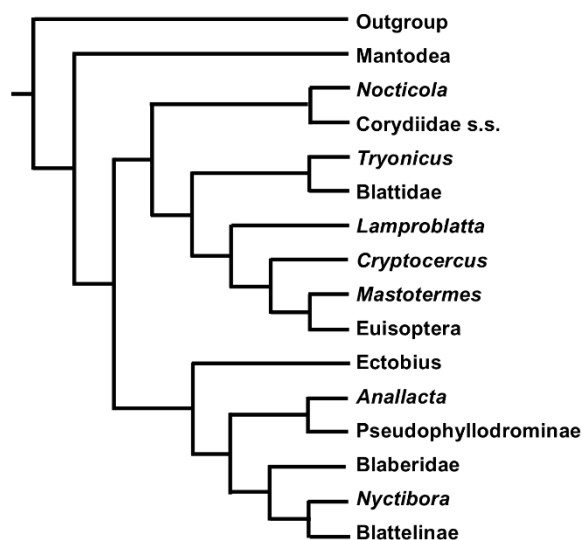
Objektem zájmu této diplomové práce jsou švábi, jež náleží do řádu Blattodea. Ti spolu se sesterskými kudlankami (Mantodea) vytvářejí monofyletickou skupinu Dictyoptera v rámci polyneopterního hmyzu (Klass a Meier, 2006).

Zásadním průlomem ve výzkumu evoluce Blattodea bylo zjištění, že termiti (Isoptera) se odštěpili uvnitř švábů. Řád Blattodea tedy zahrnuje jak šváby (cca 4600 druhů), tak termity (cca 3000 druhů) jako jejich vnitřní větev (Inward et al., 2007). Pro označení švábů s vyloučením termitů se někdy z praktických důvodů používá název „Blattaria“, nicméně je třeba

si uvědomovat, že tento taxon je parafyletický. V mé práci se zaměřím právě na tyto „netermití šváby“.

Uvnitř skupiny jsou rozlišovány tři nadčeledi (Blaberoidea, Blattoidea, Corydioidea), jejichž vzájemné vztahy nejsou zatím zcela vyřešené. Řada prací (např. Inward et al., 2007, Wang et al., 2017, Djernæs et al., 2020) podporuje vztah Corydioidea + (Blattoidea + Blaberoidea). Bourguignon et al. (2018) se kloní spíše ke vztahu Blattoidea + (Blaberoidea + Corydioidea) a někteří další autoři naopak ke vztahu Blaberoidea + (Corydioidea + Blattoidea) (Legendre et al., 2015, Evangelista et al., 2019).

Sesterskou skupinou termitů se v rámci švábů ukázala být čeleď Cryptocercidae (McKittrick, 1964, Lo et al., 2000, Inward et al., 2007, Pellens et al., 2007). Rod *Cryptocercus* sdílí s takzvanými nižšími termity některé vlastnosti, jmenovitě dřevožravost, obligátní vztah se symbiotickými střevními bičíkovci (Hypermastigida, Oxymonadida) předávanými



Obrázek 2 – Fylogenetický strom Blattodea podle Evangelista et al. (2019)

anální trofalaxi a sociální chování (Klass et al., 2008). Problematickým se však jeví umístění této skupiny (Cryptocercidae + Isoptera) v rámci zbývajících Blattodea. V průběhu výzkumů byla navržena řada kandidátů na jejich sesterskou skupinu – Corydiidae (Cameron et al., 2012), Nocticolidae + Corydiidae (Djernæs et al., 2012), Blattidae (Lo et al., 2003, Inward et al., 2007), Lamproblattidae (Legendre et al., 2015, Evangelista et al., 2019), Tryonicidae (Murienne, 2009), Anaplectidae + Tryonicidae (Djernæs et al., 2015), Blattidae + Tryonicidae (Bourguignon et al., 2018). Zástupci čeledí Lamproblattidae, Tryonicidae a Anaplectidae však v řadě studií (Lo et al., 2003, Inward et al., 2007, Cameron et al., 2012, Djernæs et al., 2012) chyběli a jejich fylogenetickou pozicí se tak zabývají až novější práce.

Nadčeď Blattoidea (neboli BLATCI *clade* podle Djernæs et al., 2015) tedy podle současného pohledu tvoří čeledi Blattidae, Anaplectidae, Lamproblattidae, Tryonicidae a Cryptocercidae + Isoptera, přičemž o konkrétní topologii zatím nepanuje shoda.

Nadčeď Blaberoidea, jež zahrnuje největší počet druhů, se tradičně dělí na dvě čeledi – Blaberidae a Ectobiidae. Zatímco o monofyletičnosti čeledi Blaberidae nepanují pochyby, čeleď Ectobiidae se dlouhodobě jeví jako parafyletická ve vztahu k Blaberidae (Inward et al.,

2007, Bourguignon et al., 2018, Evangelista et al., 2019, Djernæs et al., 2020), a proto byly její čtyři původní podčeledi (Blattellinae, Ectobiinae, Nyctiborinae, Pseudophyllodromiinae) recentně povýšeny na samostatné čeledi (Blattellidae s.s., Ectobiidae s.s., Nyctiboridae, Pseudophyllodromiidae) (Djernæs et al., 2020). Podobně nejistá je monofylie a vzájemné vztahy většiny z dvanácti podčeledí náležících do Blaberidae (Djernæs et al., 2020).

Třetí nadčeď Corydioidea sestává ze dvou sesterských taxonů Corydidae (5 podčeledí) a Nocticolidae. Problémem zůstává skutečnost, že čeď Nocticolidae tvoří při fylogenetických analýzách dlouhou větev, což může ovlivňovat její pozici a pozici celé nadčeledi (Bourguignon et al., 2018). Podle některých autorů se navíc čeď Corydiidae zdá být parafyletická vzhledem k Nocticolidae (Djernæs et al., 2015, Legendre et al., 2015, Wang et al., 2017).

V rámci jednotlivých čeledí také existuje řada rodů nejistého zařazení (*incertae sedis*) (z rodů zkoumaných v této práci např. *Eustegasta* /Legendre et al., 2017/).

Švábi byli pro účely této diplomové práce zvoleni z několika důvodů. Hlavním důvodem jsou zajímavé vlastnosti této skupiny – značná ekologická, morfologická i behaviorální diverzita, která skýtá zajímavé možnosti pro korelace s velikostí genomů. Švábi obývají široké spektrum habitatů, od lesů všech typů, přes stepi, až po jeskyně a pouště. Některé druhy jsou semiakvatické (Bell et al., 2007), jiné myrmekofilní (Roth, 1995, Phillips et al., 2017) či termitofilní (Fernando, 1957). Zajímavé jsou také svými symbiotickými organismy (bakteriemi a prvoky). Existují u nich různé stupně sociálního chování, jehož vrcholem je pak eusocialita u termitů. Z morfologického hlediska jsou zajímaví častým pohlavním dimorfismem (velikost i tvar těla, zbarvení) a také různým stupněm redukce křídel – mohou být zcela apterní, brachypterní či plně okřídlení a tento stav se může lišit i mezi jedinci stejného druhu, často mezi samci a samičkami, ale i v rámci jednoho pohlaví (Bell et al., 2007).

Dalším významným důvodem byla (v návaznosti na další, již probíhající projekty) existence dlouhodobého chovu řady druhů v entomologických chovech katedry zoologie. Mnoho druhů švábů se dá poměrně dobře chovat s laboratorních podmínkách, což poskytuje výhodu v podobě celoroční dostupnosti čerstvého materiálu.

Pro člověka jsou švábi důležití zejména z hospodářského hlediska, jelikož mezi ně patří někteří známí škůdci. Jmenujme například celosvětově rozšířené synantropní druhy *Periplaneta americana*, *Blatta orientalis*, *Blattella germanica* či *Supella longipalpa*. Řada druhů však slouží i jako modelové organismy ve výzkumu, například v etologii, fyziologii (Djernæs, 2018) a dokonce i v robotice (např. Quinn et al., 2003, Hu et al., 2014). Díky nízkým nárokům na chov jsou také s oblibou využívány jako potrava pro další lidmi chované živočichy, zejména jiné

bezobratlé nebo plazy. A v neposlední řadě je potřeba zmínit i důležitou roli, kterou hrají švábi v přírodě – podílejí se na rozkladu organického materiálu, slouží jako zdroj potravy pro řadu druhů a v některých případech jsou i významnými opylovači (Bell et al., 2007).

2 Cíle práce

- 1) Rozšířit dataset dosud známých velikostí genomu o co největší počet druhů švábů.
- 2) Porovnat rozdíly velikostí genomu mezi pohlavími u jednotlivých druhů.
- 3) Porovnat výsledky se známou fylogenezí.

3 Metodika

3.1 Hmyzí materiál

V této práci bylo analyzováno celkem 147 druhů reprezentujících všechny tři nadčeledi švábů (Blaberoidea, Blattoidea, Corydioidea) (viz Tabulka 2). Z hlediska fylogeneze byly pokryty všechny hlavní čeledi a podčeledi, s výjimkou některých menších a těžko dostupných skupin (čeledi Anaplectidae, Lamproblattidae, Tryonicidae, Cryptocercidae, podčeleď Nyctiborinae). Většina druhů pochází z dlouhodobých kultur chovaných v entomologických chovech katedry zoologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy, přičemž se jedná jak o laboratorní linie neznámého původu, tak i o druhy dovezené z přírody a u nás úspěšně množené. Další významné množství druhů bylo pro účely této práce získáno od soukromých chovatelů, jmenovitě od Jiřího Hromádky (ČR) a Nicolase Rousseaux (Belgie). V případě několika málo druhů místního rozšíření byl živý materiál získán vlastním sběrem autorkou této práce.

Pokud byl materiál dostupný, byla velikost genomu měřena u obou pohlaví. Výjimku představují některé obtížně chovatelné druhy nebo druhy partenogenetické. Měřeny byly také různé morfortypy v rámci jednoho druhu (velikostní nebo barevné varianty, brachypterní vs. makropterní jedinci), případně jedinci jednoho druhu pocházející z různých lokalit.

V této práci se držím taxonomie podle *Cockroach Species File* (Beccaloni, 2020). Nejnovější rozdělení původní čeledi Ectobiidae na několik samostatných čeledí podle Djernæs et al., (2020) zde tak ještě není reflektováno. Do nových čeledí však byly přeraženy jen druhy studované prostřednictvím molekulárně-fylogenetických metod, což se většiny zde analyzovaných druhů netýká.

3.2 Průtoková cytometrie

K přípravě vzorků byl použit živý hmyzí materiál. Danému jedinci byla odebrána svalová tkáň z oblasti kyčle¹ a umístěna do Petriho misky.

Ke tkáni bylo přidáno odpovídající množství listu standardu a 500 µl vychlazeného pufru Otto I (0,1M monohydrát kyseliny citronové, 0,5% Tween 20 podle /Doležel et al., 2007/). Směs byla homogenizována nasekáním ostrou žiletkou. Vzorek byl následně přefiltrován přes nylonový filtr (velikost oka 42 µm, Silk & Progress, s. r. o., Brněnec, Česká republika). Posléze byl vzorek obarven 1 ml barvicího roztoku následujícího složení: pufr Otto II (0,4 M Na₂HPO₄·12H₂O podle /Doležel et al., 2007/), RNáza A (50 µg/ml, Sigma), antioxidant β-mercaptoethanol (2 µl/ml, Sigma) a fluorescenční barvivo propidium jodid (50 µg/ml, Sigma).

Jako interní standardy byly použity tři rostliny – *Solanum pseudocapsicum*, *Bellis perennis* (Schönswetter et al., 2007b) a *Pisum sativum* (Doležel et al., 2007b). Zlatým standardem bylo *Solanum pseudocapsicum* (2C = 2,61 pg dle Temsch et al., 2010), podle něhož byly kalibrovány zbylé dva (viz Tabulka 1).

Standard:	Český název:	2C (pg):	2C (Mbp):
<i>Solanum pseudocapsicum</i>	lilek višňový	2,61	2552,58
<i>Bellis perennis</i>	sedmikráska obecná	3,46	3383,88
<i>Pisum sativum</i>	hrách setý	8,98	8782,44

Tabulka 1 – Přehled použitých standardů

Použití několika standardů bylo nezbytné vzhledem k rozpětí velikostí švábích genomů. I při studiu skupin organismů s menší variabilitou velikosti genomu je obvykle potřeba použití

¹ Někteří autoři využívají k tomuto účelu jiné části hmyzího těla, nejčastěji hlavu (Hare a Johnston, 2011), případně u drobných druhů i celého jedince (Craddock et al., 2016). V tom případě je ale ve vzorku přítomna řada tkání, které mohou měření zkomplikovat. Problémy může působit obsah střeva, případně slinné žlázy a další tkáně, ve kterých může docházet k endopolyploidizaci (Lee et al., 2009, Camacho, 2016). Z tohoto důvodu jsme se rozhodli raději pro sval. Výhodou je také skutečnost, že odebrání nohy neztěžuje případnou dodatečnou determinaci, případně je možné zbytek jedince využít k dalšímu výzkumu, čímž se snižuje spotřeba jedinců, a tudíž i nutnost usmrcování dalších zvířat.

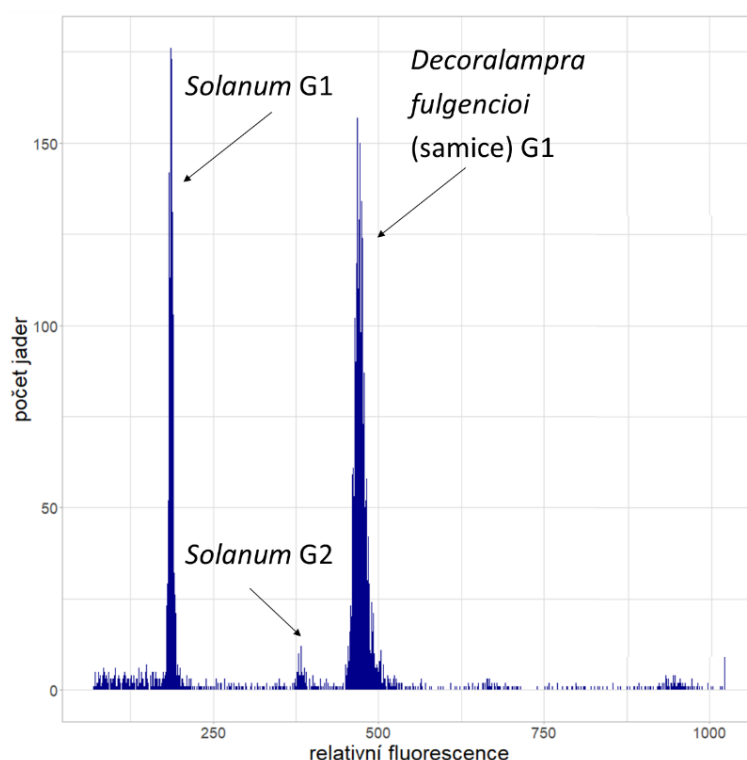
alespoň dvou různých standardů, vzhledem ke skutečnosti, že při velmi podobné velikosti standardu a zkoumaného druhu se jejich píky mohou na výsledném histogramu překrývat (Doležel a Greilhuber, 2010).

Měření probíhalo v Laboratoři průtokové cytometrie na katedře botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy. Vzorky byly analyzovány na průtokovém cytometru Partec CyFlow SL (Partec, Münster), jako excitační zdroj byl použit zelený (532 nm) *solid state* laser. Každý vzorek byl analyzován celkem dvakrát, a to ve dvou po sobě následujících dnech, aby byla ověřena přesnost měření.

3.3 Vyhodnocování cytometrických analýz

K vyhodnocení analýz byl použit software Partec FloMax 2.4b (Partec GmbH, Münster). Velikost genomu byla odvozena z výsledného histogramu, konkrétně pak z poměru standardu vůči měřenému vzorku (viz Obrázek 3).

Vždy byly zaznamenány také hodnoty variačních koeficientů (CV), které vypovídají o přesnosti analýzy. Do výsledků byly zahrnuty pouze analýzy, jejichž hodnoty CV nepřesahovaly 5 %.



Obrázek 3 – Histogram analýzy velikosti genomu u samice švába druhu *Decoralampra fulgencioi*.

1. pík je tvořen jádry buněk standardu (*Solanum pseudocapsicum*) v G1 fázi buněčného cyklu.
2. pík ve dvojnásobné vzdálenosti náleží standardu v G2 fázi.
3. pík je šváb v G1 fázi.

3.4 Analýza dat

K závěrečné analýze dat byla využita platforma R 3.6.3 (R Core Team, 2013) v prostředí RStudio (RStudio Team, 2020). Pro statistické účely byly aplikovány neparametrické statistické testy (Wilcoxonův test pro porovnání párová a Kruskalův-Wallisův test pro porovnání vícečetná) a parametrický dvouvýběrový t-test. Pro generaci grafických výstupů jsem použila balíček *ggplot2* 3.3.2 (Wickham, 2016).

Průměr samců i samic byl vypočten jako průměr všech měření daného pohlaví a druhu. Pro výpočet druhových průměrů byl použit průměr mezi průměrnou velikostí genomu samce a samice (pokud byly k dispozici údaje pro obě pohlaví, v opačném případě jde logicky jen o průměr všech měření u dostupného pohlaví).

4 Výsledky

4.1 Přehled velikostí genomu švábů

Největší velikost genomu (samice $2C = 35,17$ pg) byla nalezena u druhu *Therea olegrandjeani* (Corydiidae: Corydiinae). Velké genomy ($2C > 20$ pg) vykazují i další druhy rodu *Therea* a také druhy rodu *Ergaula* z téže podčeledi. Z jiných skupin tuto hranici překračuje pouze druh *Eublaberus posticus* (Blaberidae: Blaberinae).

Naopak nejmenší velikost genomu (samec $2C = 3,41$ pg) v našem datasetu patří druhu *Holocompsa nitidula* (Corydiidae: Holocompsinae). Velikost genomu pod 4 pg vykazuje také několik druhů rodů *Gyna* a *Pseudocalolampra* (Blaberidae: Gyninae).

Následující stránky poskytují formou tabulky přehled velikostí genomu všech 147 měřených druhů.

Tabulka 2 (následující stránky) – Přehled průměrných velikostí genomu pro všechny měřené druhy švábů. Pohlaví: M – samec, F – samice, Standardy: S – *Solanum pseudocapsicum*, P – *Pisum sativum*, B – *Bellis perennis*. Průměrná 2C-hodnota: byla vypočten jako prostý průměr všech měření u daného pohlaví.

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Blaberidae	Blaberinae	<i>Archimandrita tessellata</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	11,68	0,05
					M	1	2	S	10,59	0,03
			<i>Blaberus atropos</i>	Trinidad	F	1	2	S	12,85	0,19
					M	1	2	S	12,30	0,01
			<i>Blaberus boliviensis</i>	Bolívie	F	1	2	S	12,57	0,12
					M	1	2	S	12,28	0,07
			<i>Blaberus colosseus</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	9,65	0,04
					M	1	2	S	9,43	0,02
			<i>Blaberus craniifer</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	9,28	0,12
					M	2	4	S	9,04	0,11
			<i>Blaberus discoidalis</i>	Laboratorní chov	F	1	2	P	9,77	0,03
			<i>Blaberus giganteus</i>	Trinidad	F	1	2	S	14,26	0,06
					M	1	2	S	13,44	0,21
			<i>Blaberus sp.</i>	Panama	M	1	2	S	9,72	0,12
			<i>Blaptica dubia</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	10,49	0,10
					M	1	2	S	9,96	0,10
			<i>Byrsotria cabrerai</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	6,10	0,05
					M	1	2	S	5,92	0,05
			<i>Byrsotria fumigata</i>	Laboratorní chov	F	2	3	S	6,21	0,06
					M brachy.	1	2	S	6,09	0,01
					M makro.	1	2	S	6,12	0,03
			<i>Byrsotria rothi</i>	Laboratorní chov	F	1	2	B	6,50	0,02
					M	1	2	B	6,43	0,02
			<i>Eublaberus cf. distanti f. ivory</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	13,80	0,21
					M	1	2	S	13,30	0,22

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Blaberidae	Blaberinae	<i>Eublaberus distanti</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	11,91	0,06
					M	1	2	S	11,71	0,03
			<i>Eublaberus posticus</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	20,20	0,21
					M	1	2	S	19,86	0,11
			<i>Eublaberus serranus</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	11,48	0,05
					M	1	2	S	11,07	0,07
			<i>Eublaberus sp. FG</i>	Francouzská Guyana	F	1	2	S	17,83	0,04
					M	1	2	S	17,30	0,10
			<i>Hemiblabera tenebricosa</i>	Laboratorní chov	M	3	6	S	8,39	0,06
					F	3	6	S	8,70	0,08
			<i>Hyporhicnoda sp.</i>	Venezuela	F	1	2	S	10,52	0,03
					M	1	2	S	10,51	0,07
		Diplopterinae	<i>Diploptera punctata</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	7,37	0,02
					M	1	2	S	7,32	0,02
		Epilamprinae	<i>Decoralampra fulgencioi</i>	Filipíny	F	1	2	S	6,61	0,02
					M	1	2	S	6,38	0,00
			<i>Epilampra maya</i>	USA, Florida, Arcadia	F	1	2	S	9,55	0,11
					M	1	2	S	9,35	0,09
			<i>Opisthoplatia orientalis</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	8,11	0,01
					M	2	4	S	7,70	0,05
			<i>Pseudophoraspis sp.</i>	Čína, Bubeng	?	1	2	B	9,80	0,07
			<i>Rhabdoblatta sp. CHINA</i>	Čína, Bubeng	M	1	2	B	6,20	0,01
			<i>Rhabdoblatta sp. KAM1</i>	Kamerun, Mamba village	M	1	2	B	7,37	0,03

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Blaberidae	Epilamprinae	<i>Rhabdoblatta sp. KAM2</i>	Kamerun, Mamba camp	F	1	2	B	4,64	0,02
			<i>Rhabdoblatta sp. PNG1</i>	Papua Nová Guinea	F	1	2	S	8,47	0,03
					M	2	4	S	7,74	0,06
			<i>Rhabdoblatta sp. PNG2</i>	Papua Nová Guinea	F	3	6	S	6,35	0,05
					M	1	2	S	5,98	0,00
			<i>Thorax porcellana</i>	Indie	F	1	2	S	4,62	0,04
					M	2	3	B, S	4,48	0,02
		Gyninae	<i>Gyna cafferorum</i>	Laboratorní chov	F	2	4	S	3,73	0,03
					M	1	2	S	3,58	0,00
			<i>Gyna capucina</i>	Kamerun, Ebogo	F	1	2	S	3,98	0,01
					M	1	2	S	3,86	0,01
			<i>Gyna centurio</i>	Gambie	F	1	2	S	4,39	0,01
					M	1	2	S	4,20	0,01
			<i>Gyna laticosta</i>	Kamerun, Nyassosso	M	1	2	S	3,99	0,02
					F	1	2	S	4,11	0,02
			<i>Gyna lurida</i>	Laboratorní chov	F	2	3	S	4,82	0,05
					M hnědý	1	2	S	4,62	0,03
					M žlutý	1	2	S	4,71	0,01
			<i>Pseudocalolampra cf. pardalina</i>	JAR, Ithala	F	1	2	S	4,04	0,02
					M	1	2	S	3,97	0,00
		Oxyhaloinae	<i>Aeluropoda insignis</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	7,76	0,03
					M	1	2	S	7,53	0,01
			<i>Elliptorhina cf. lefeuvri</i>	Madagaskar	F	1	2	S	6,68	0,05
					M	1	2	S	6,65	0,01
			<i>Elliptorhina coquereliana</i>	Madagaskar	F	1	2	S	6,66	0,04
					M	1	2	S	6,55	0,02

Nadčeleď	Čeleď	Podčeleď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Blaberidae	Oxyhaloinae	<i>Elliptorhina davidi</i>	Laboratorní chov	F	1	2	B	7,81	0,02
					M	1	2	B	7,57	0,02
			<i>Elliptorhina chopardi</i>	Laboratorní chov	F	1	2	B	6,84	0,10
					M	1	2	B	6,63	0,08
			<i>Elliptorhina javanica</i>	Laboratorní chov	F	1	2	B	7,61	0,05
					M	1	2	B	7,35	0,07
			<i>Elliptorhina laevigata</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	7,69	0,05
					M	1	2	B	7,59	0,01
			<i>Gromphadorhina oblongonota</i>	Laboratorní chov	F	1	2	B	8,01	0,00
					M	1	2	B	7,80	0,01
			<i>Gromphadorhina portentosa</i>	Madagaskar	F	1	2	S	7,97	0,04
					M	5	10	S, B	7,68	0,09
			<i>Henschoutedenia flexivitta</i>	Kamerun, Mamba village	F	2	4	P, S	16,31	0,04
					M	2	4	P, S	15,49	0,23
			<i>Nauphoeta cinerea</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	10,84	0,06
					M	2	3	B, S	10,63	0,06
			<i>Oxyhaloa deusta</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	12,58	0,01
					M	1	2	S	12,45	0,02
			<i>Princisia vanwaerbecki</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	7,76	0,02
					M	1	2	S	7,60	0,01
			<i>Rhyparobia maderae</i>	Laboratorní chov	F	3	5	S, B	11,48	0,08
					M	4	6	S, B	11,20	0,07
			<i>Rhyparobia puerilis</i>	Kamerun, Ebogo	F	1	1	B	11,68	-
			<i>Simandoa conserfariam</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	11,00	0,10
					M	2	4	B,S	10,79	0,06

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Blaberidae	Panesthiinae	<i>Ancaudellia s. serratissima</i>	Papua Nová Guinea	F	1	2	S	5,90	0,01
					M	1	2	S	5,71	0,04
			<i>Panesthia angustipennis angustipennis</i>	Filipíny, Mt. Malambo	F	1	2	S	7,71	0,03
					M	1	2	S	7,46	0,01
			<i>Panesthia angustipennis cognata</i>	Vietnam, Tan Dao	F	1	2	S	8,27	0,02
					M	1	2	S	7,97	0,02
			<i>Salganea raggei</i>	Vietnam	F	1	2	S	11,48	0,16
					M	1	2	S	11,22	0,08
			<i>Salganea</i> sp. OKI	Japonsko, Okinawa	F	1	2	S	12,34	0,04
					M	1	2	S	11,78	0,08
			<i>Salganea taiwanensis</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	7,11	0,03
					M	1	2	S	6,64	0,05
		Panchlorinae	<i>Panchlora nivea</i>	Laboratorní chov	M	2	4	S	4,24	0,02
					F	2	4	S	4,45	0,01
		Paranauphoetinae	<i>Paranauphoeta formosana</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	8,46	0,03
					M	1	2	S	8,27	0,02
			<i>Paranauphoeta rufipes</i>	Papua Nová Guinea	F	1	2	S	5,44	0,01
					M	1	2	S	5,09	0,03

Nadčeleď	Čeleď	Podčeleď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Blaberidae	Perisphaerinae	Bantua sp.	JAR, Hogsback	F	1	2	S	9,20	0,01
					M	1	2	S	8,81	0,03
			Corydidarum pygmaea	Laboratorní chov	F	2	4	S	8,61	0,08
					M	2	4	S	8,42	0,07
			Corydidarum tarsalis	Laboratorní chov	F	1	2	S	8,54	0,01
					M	1	2	S	8,33	0,02
			Cyrtotria sp.	Malawi	F	1	2	S	13,24	0,03
			Derocalymma sp.1	JAR	F	1	2	S	9,08	0,02
					M	1	2	S	8,78	0,00
			Derocalymma sp.2	JAR, Ithala	F	1	2	B	11,01	0,01
					M	1	2	B	10,76	0,08
			Elliptoblatta sp.	Madagaskar	F	2	3	S, B	6,18	0,09
					M	1	2	S	6,04	0,04
		Pycnoscelinae	Pycnoscelus femapterus	Laboratorní chov	F	1	2	S	13,28	0,08
					M	1	2	S	12,82	0,09
			Pycnoscelus indicus	Čína, Xiamen	F	1	2	S	12,05	0,12
					M	2	2	S	11,89	0,05
			Pycnoscelus nigra	Čína	F	1	2	S	17,44	0,19
			Pycnoscelus striata	Laboratorní chov	F	2	4	S	5,85	0,03
					M	2	4	S	5,66	0,03
			Pycnoscelus surinamensis	Filipíny, Mt. Malambo	F	1	2	S	12,13	0,01
				Kamerun, Ebogo	F	1	2	B	12,00	0,03
				Papua Nová Guinea	F	1	2	S	12,33	0,08
			Pycnoscelus tenebriger	Pákistán	F	1	2	S	7,44	0,03
					M	1	2	S	7,15	0,04

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Blaberidae	Zetoborinae	<i>Capucina patula</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	9,68	0,02
					M	1	2	S	9,01	0,02
			<i>Lucihormetica cf. verrucosa</i>	Laboratorní chov	F	2	4	S	5,56	0,07
					M	2	4	S	5,42	0,06
			<i>Lucihormetica subcincta</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	8,75	0,05
					M	1	2	S	8,60	0,02
			<i>Phoetalia pallida</i>	Laboratorní chov	M	3	6	S	7,50	0,13
					F	3	6	S	7,61	0,04
			<i>Schultesia lampyridiformis</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	8,43	0,05
					M	1	2	S	8,14	0,02
		incertae sedis	<i>Eustegasta sp. 1</i>	Madagaskar	F	1	2	S	5,18	0,06
			<i>Eustegasta sp. 2</i>	Madagaskar	F	2	4	S	5,59	0,03
			<i>Eustegasta sp. 3</i>	Madagaskar	F	1	2	S	5,73	0,04
			<i>Paraplecta cf. minutissima</i>	Keňa	M	2	4	S	4,83	0,04
					F	2	4	S	5,05	0,05
			<i>Anallacta methanoides</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	6,98	0,03
	Ectobiidae	Blattellinae	<i>Asiablatta kyotensis</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	6,84	0,01
					M	1	2	S	6,64	0,03
			<i>Blattella germanica</i>	Etiopie, Butajira	F	1	2	S	4,73	0,01
					M	1	2	S	4,53	0,00
			<i>Blattella vaga</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	6,93	0,07
					M	1	2	S	6,60	0,03
			<i>Episymphloe sundaica</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	5,11	0,01
					M	1	2	S	4,97	0,01
			<i>Hemithyrsocera palliata</i>	Thajsko	M	1	2	S	4,68	0,02
					F	1	2	S	4,92	0,03

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Ectobiidae	Blattellinae	<i>Ischnoptera rufa</i>	Costa Rica	F	1	2	S	6,18	0,03
					M	1	2	S	6,10	0,01
			<i>Loboptera decipiens</i>	Chorvatsko, Brač	M	2	4	S	5,11	0,07
					F	2	4	S	5,19	0,06
			<i>Lobopterella dimidiatipes</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	7,06	0,00
					M	1	2	S	6,72	0,02
			<i>Paratemnopteryx coulouiana</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	9,17	0,04
					M	1	2	S	8,85	0,02
			<i>Parcoblatta fulvescens</i>	Laboratorní chov	M	1	2	S	7,92	0,06
					F	1	2	S	8,08	0,06
			<i>Parcoblatta notha</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	8,81	0,04
					M	1	2	S	8,26	0,01
			<i>Pseudomops septentrionalis</i>	USA, Texas	F	2	4	S	6,49	0,03
					M	1	2	S	6,27	0,01
			<i>Symploce macroptera</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	10,40	0,09
					M	1	2	S	9,71	0,03
			<i>Symploce pallens</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	8,40	0,05
					M	1	2	S	7,97	0,04
		Ectobiinae	<i>Ectobius lapponicus</i>	ČR, Milovice	M	1	2	S	6,01	0,05
			<i>Ectobius sylvestris</i>	ČR, Vlkov	F	2	4	S	5,02	0,02
				ČR, terénní stanice Ruda	M	2	4	S	4,80	0,02
			<i>Phyllodromica maculata</i>	ČR, Milovice	F	1	2	S	4,59	0,00
					M	1	2	S	4,52	0,04
			<i>Phyllodromica marginata</i>	Albánie, Bredhi i Hotoves	F	1	2	S	5,62	0,01

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blaberoidea	Ectobiidae	Pseudophyllodromiinae	<i>Balta notulata</i>	Japonsko	F	1	2	S	7,29	0,04
					M	1	2	S	7,21	0,05
			<i>Ellipsoidion castaneum</i>	Papua Nová Guinea	M	2	4	S	5,64	0,09
					F	2	4	S	5,85	0,03
			<i>Neoblattella detersa</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	5,16	0,02
					M	1	2	S	4,95	0,01
			<i>Supella cf. dimidiata</i>	JAR, Uitkmoot	F	1	2	S	4,35	0,01
					M	1	2	S	4,22	0,00
			<i>Supella longipalpa</i>	Řecko, Atény	F	1	2	S	5,27	0,01
					M	1	2	S	4,70	0,00
			<i>Supella sp.</i>	Somaliland, Borama	F	1	2	S	4,37	0,01
					M	1	2	S	4,15	0,02
		Incertae sedis	<i>Dipteretrum hanstroemi</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	10,26	0,04
					M	1	2	S	9,90	0,02
Blattoidea	Blattidae	Blattinae	<i>Apterisca nigrita</i>	JAR, Ithala	?	1	2	B	10,23	0,03
			<i>Blatta orientalis</i>	Ázerbajdžán, Baku	F	1	2	S	8,21	0,04
					M	1	2	S	7,76	0,03
				Belgie, Liège	F	1	2	S	8,35	0,02
					M	1	2	S	7,86	0,01

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blattoidea	Blattidae	Blattinae	<i>Blatta orientalis</i>	Bulharsko, Varna	F	1	2	S	8,21	0,02
					M	1	2	S	7,78	0,04
				Portugalsko, Porto	F	1	2	S	8,15	0,01
					M	1	2	S	7,68	0,04
			<i>Brinckella hanstroemi</i>	JAR, Hogsback	M	1	2	S	7,62	0,02
			<i>Deropeltis bueana</i>	Kamerun, Nyassosso	F	1	2	B	8,58	0,07
					M	1	2	B	8,19	0,10
			<i>Deropeltis erythrocephala</i>	JAR	F	1	2	S	11,48	0,15
					M	1	2	S	11,29	0,05
			<i>Deropeltis madecassa</i>	Madagaskar	F	1	2	S	9,86	0,07
					M	1	2	S	9,51	0,07
			<i>Deropeltis paulinoi</i>	Namibie	F	1	2	S	8,77	0,06
					M	1	2	S	8,46	0,05
			<i>Deropeltis</i> sp. JAR	JAR, Hluhluwe	F	1	2	S	10,24	0,08
					M	1	2	S	9,94	0,03
			<i>Deropeltis</i> sp. SOM	Somaliland, Daalo Forest	F	1	2	S	9,39	0,04
					M	1	2	S	9,08	0,03
			<i>Hebardina</i> sp.	Kamerun	F	1	2	B	13,29	0,12
					M	1	2	B	12,85	0,01
			<i>Hebardina ugandana</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	6,23	0,03
					M	1	2	S	5,96	0,00
			<i>Neostylopyga rhombifolia</i>	Laboratorní chov	F	2	4	B, S	6,36	0,06
					M	1	2	B	6,23	0,06
			<i>Periplaneta americana</i>	Kamerun, Nyassosso	M	2	3	S	7,55	0,01
				Madagaskar	F	1	2	S	7,71	0,02
					M	1	2	S	7,58	0,01

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Blattoidea	Blattidae	Blattinae	<i>Periplaneta australasiae</i>	Kamerun, Mamba camp	F	1	2	S	11,76	0,02
					M	1	2	S	11,14	0,01
			<i>Periplaneta brunnea</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	13,58	0,26
					M	1	2	S	13,10	0,26
			<i>Periplaneta fuliginosa</i>	Čína	F	1	2	S	10,52	0,13
					M	1	2	S	10,05	0,11
			<i>Pseudoderopeltis sp.</i>	Etiopie, Senkele	F	1	2	S	11,07	0,05
					M	1	2	S	10,98	0,04
			<i>Shelfordella tartara</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	6,80	0,06
					M	1	2	S	6,64	0,02
		Polyzosteriinae	<i>Eurycotis decipiens</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	11,18	0,09
					M	1	2	S	11,03	0,00
			<i>Eurycotis floridana</i>	USA, Florida, Sarasota	F	1	2	S	12,36	0,16
					M	1	2	S	11,71	0,06
				USA, Florida, Torch Key	F	1	2	S	12,49	0,07
					M	1	2	S	11,96	0,13
			<i>Eurycotis lixa</i>	USA, Florida, Marathon	M	1	2	S	8,40	0,06
			<i>Eurycotis opaca</i>	Laboratorní chov A	F	1	2	S	12,79	0,25
					M	2	3	S	11,84	0,13
				Laboratorní chov B	F	1	2	S	12,02	0,05
					M	1	2	S	11,34	0,06
			<i>Melanozosteria nitida</i>	Filipíny, Hemiguitea	F	1	2	S	7,27	0,06
					M	1	2	S	7,05	0,01
			<i>Polyzosteriinae sp.</i>	Papua Nová Guinea	F	1	2	S	9,50	0,16
					M	1	2	S	9,37	0,08

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Corydioidea	Corydiidae	Corydiinae	<i>Arenivaga tonkawa</i>	USA, Texas, San Antonio	M	1	2	S	6,94	0,03
					F	1	2	S	7,26	0,06
			<i>Ergaula capensis</i>	Kamerun, Ebogo	M	1	2	B	12,38	0,05
			<i>Ergaula capucina</i>	Laboratorní chov	F	1	2	S	21,00	0,19
					M	1	2	P	19,99	0,01
			<i>Ergaula pilosa</i>	Laboratorní chov	F	1	2	P	31,75	0,01
			<i>Eucorydia yasumatsui</i>	Japonsko, Ryuku	F	2	4	S	7,70	0,07
					M?	1	2	S	7,42	0,07
			<i>Eupolyphaga sinensis</i>	Čína, Peking	M	2	4	S	4,40	0,13
					F	2	4	S	4,56	0,02
			<i>Polyphaga aegyptiaca</i>	Egypt, Sinai	F	1	2	S	4,96	0,02
					M	1	2	S	4,75	0,01
				Gruzie	F	1	2	S	4,96	0,01
					M	1	2	S	4,76	0,02
				Korfu	F	1	2	S	4,86	0,00
					M	1	2	S	4,68	0,01
				Tunisko	F	1	2	S	4,94	0,01
					M	1	2	S	4,76	0,01
			<i>Polyphaga saussurei</i>	Laboratorní chov	F	1	2	B	6,49	0,01
					M	1	2	B	6,18	0,02
			<i>Therea olegrandjeani</i>	Laboratorní chov	F malá	1	2	P	35,17	0,26
					F velká	1	2	P	34,50	0,29
					M malý	1	2	P	32,93	0,26
					M velký	1	2	P	33,46	0,22
			<i>Therea petiveriana</i>	Indie	F	1	2	P	25,10	0,05
					M	3	6	P	24,19	0,23

Nadčeď	Čeď	Podčeď	Druh	Původ	Pohlaví	Počet měřených jedinců	Počet měření celkem	Standard	Průměrná 2C-hodnota (pg)	směrodatná odchylka (pg)
Corydioidea	Corydiidae		<i>Therea regularis</i>	Laboratorní chov	M	1	2	P	22,25	0,03
					F	1	2	P	23,53	0,08
		Euthyrrhaphinae	<i>Euthyrrhapha metallica</i>	Laboratorní chov	?	1	4	B	14,58	0,15
		Holocompsinae	<i>Holocompsa nitidula</i>	Kamerun	F	1	2	S	3,42	0,04
					M	3	5	S	3,41	0,02
		Latindiinae	<i>Compsodes schwarzi</i>	USA, Arizona	F	1	2	S	4,78	0,05
					M	1	2	S	4,65	0,03
	Nocticolidae	Nocticolidae	<i>Nocticola sp.</i>	Malajsie	F	2	4	S	5,59	0,03
					?	1	2	S	5,54	0,02

4.2 Rozdíl mezi samci a samicemi

Pokud byli k dispozici jedinci obou pohlaví stejného druhu, pak jsem se vždy snažila získat data pro samce i samice. To se podařilo u celkem 125 druhů, u některých byli navíc měřeni jedinci původem z různých lokalit nebo různé morfotypy.

Následující Tabulka 4 poskytuje přehled rozdílů ve velikosti genomu mezi samci a samicemi, a to jak rozdíl procentuální, tak absolutní v pikogramech (oba údaje vyjadřují, o kolik má samice větší genom vůči samci).

Největší procentuální rozdíl byl zjištěn u druhu *Supella longipalpa* (Ectobiidae: Pseudophyllodrominae) – 12,13 %. Tento druh má poměrně malou velikost genomu (samec 2C = 4,70 pg, samice 2C = 5,27 pg), takže absolutní rozdíl tvoří pouhých 0,13 pg.

Největší absolutní rozdíl (2,24 pg) byl zjištěn u druhu *Therea olegrandjeani* (Corydiidae: Corydiinae), jehož genom je zatím mezi šváby největší známý. U tohoto druhu se v chovu objevují dvě velikostní varianty samců i samic a uvedený rozdíl se konkrétně týká rozdílu mezi malou samicí a malým samcem (viz Tabulka 3).

<i>Therea olegrandjeani</i>	♀ malá (2C = 35,17 pg)	♀ velká (2C = 34,5 pg)
♂ malý (2C = 32,93 pg)	2,24 pg (6,80 %)	1,57 pg (4,77 %)
♂ velký (2C = 33,46 pg)	1,71 pg (5,11 %)	1,04 pg (3,11 %)

Tabulka 3 – Porovnání rozdílů velikostí genomů mezi různými morfotypy samců a samic u druhu *Therea olegrandjeani*

Naopak nejmenší procentuální i absolutní rozdíl (0,10 %, respektive 0,01 pg) vykazuje *Hyporhcnoda* sp., kde jsou velikosti genomu u samce a samice téměř totožné (samice 2C = 10,52 pg, samec 2C = 10,51 pg).

Průměrný rozdíl mezi samcem a samicí je 3,73 % (medián 3,61 %), průměrný absolutní rozdíl je 0,33 pg (medián 0,24 pg).

Tabulka 4 (následující strana) – Přehled rozdílů ve velikosti genomu mezi samcem a samicí (o kolik má samice větší genom vůči samci). *Rozdíl je signifikantní podle t-testu. **Rozdíl je signifikantní podle t-testu i podle Wilcoxonova testu.

Čeďed'	Podčeďed'	Druh	Rozdíl ♀ vs. ♂ (%)	Absolutní rozdíl ♀ vs. ♂ (pg)
Blaberidae	Blaberinae	<i>Archimandrita tessellata</i> *	10,29 %	1,09
		<i>Blaberus atropos</i>	4,47 %	0,55
		<i>Blaberus boliviensis</i>	2,36 %	0,29
		<i>Blaberus colosseus</i> *	2,33 %	0,22
		<i>Blaberus craniifer</i>	2,65 %	0,24
		<i>Blaberus giganteus</i>	6,10 %	0,82
		<i>Blaptica dubia</i>	5,32 %	0,53
		<i>Byrsotria cabrerai</i>	3,04 %	0,18
		<i>Byrsotria fumigata</i>	1,97 %	0,12
		<i>Byrsotria rothi</i>	1,09 %	0,07
		<i>Eublabeus cf. distanti f. ivory</i>	3,76 %	0,5
		<i>Eublabeus distanti</i>	1,71 %	0,2
		<i>Eublabeus posticus</i>	1,71 %	0,34
		<i>Eublabeus serranus</i> *	3,70 %	0,41
		<i>Eublabeus sp. FG</i>	3,06 %	0,53
		<i>Hemiblabeus tenebricosus</i> **	3,69 %	0,31
		<i>Hyporhichnoda sp.</i>	0,10 %	0,01
	Diplopterinae	<i>Diploptera punctata</i>	0,68 %	0,05
	Epilamprinae	<i>Decoralampra fulgencioi</i> *	3,61 %	0,23
		<i>Epilampra maya</i>	2,14 %	0,2
		<i>Opisthoplatia orientalis</i> *	5,32 %	0,41
		<i>Rhabdoblatta sp. PNG1</i> *	9,43 %	0,73
		<i>Rhabdoblatta sp. PNG2</i>	6,19 %	0,37
		<i>Thorax porcellana</i>	3,13 %	0,14

Čeďed'	Podčeďed'	Druh	Rozdíl ♀ vs. ♂ (%)	Absolutní rozdíl ♀ vs. ♂ (pg)
	Gyninae	<i>Gyna cafferorum</i> *	4,19 %	0,15
		<i>Gyna capucina</i> *	3,11 %	0,12
		<i>Gyna centurio</i> *	4,52 %	0,19
		<i>Gyna laticosta</i> *	3,01 %	0,12
		<i>Gyna lurida</i> **	4,33 %	0,2
		<i>Pseudocalolampra cf. pardalina</i>	1,76 %	0,07
	Oxyhaloinae	<i>Aeluropoda insignis</i>	3,05 %	0,23
		<i>Elliptorhina cf. lefeuvri</i>	0,45 %	0,03
		<i>Elliptorhina coquereliana</i>	1,68 %	0,11
		<i>Elliptorhina davidi</i> *	3,17 %	0,24
		<i>Elliptorhina chopardi</i>	3,17 %	0,21
		<i>Elliptorhina javanica</i>	3,54 %	0,26
		<i>Elliptorhina laevigata</i>	1,32 %	0,1
		<i>Gromphadorhina oblongonota</i> *	2,69 %	0,21
		<i>Gromphadorhina portentosa</i> **	5,01 %	0,38
		<i>Henschoutedenia flexivitta</i> **	5,29 %	0,82
		<i>Nauphoeta cinerea</i>	1,98 %	0,21
		<i>Oxyhaloa deusta</i>	1,04 %	0,13
		<i>Princisia vanwaerbecki</i> *	2,11 %	0,16
		<i>Rhyparobia maderae</i> **	2,50 %	0,28
		<i>Simandoa conserfariam</i>	1,95 %	0,21
	Panesthiinae	<i>Ancaudellia serratissima serratissima</i> *	3,33 %	0,19
		<i>Panesthia angustipennis angustipennis</i> *	3,35 %	0,25
		<i>Panesthia angustipennis cognata</i>	3,76 %	0,3
		<i>Salganea raggei</i>	2,32 %	0,26

Čeďed'	Podčed'	Druh	Rozdíl ♀ vs. ♂ (%)	Absolutní rozdíl ♀ vs. ♂ (pg)
Blaberidae	Pantsthiinae	<i>Salganea</i> sp. OKI*	4,75 %	0,56
		<i>Salganea taiwanensis</i> *	7,08 %	0,47
		<i>Panchlora nivea</i> **	4,95 %	0,21
Blaberidae	Paranauphoetinae	<i>Paranauphoeta formosana</i>	2,30 %	0,19
		<i>Paranauphoeta rufipes</i> *	6,88 %	0,35
	Perisphaerinae	<i>Bantua</i> sp.*	4,43 %	0,39
		<i>Corydidarum pygmaea</i> *	2,26 %	0,19
		<i>Corydidarum tarsalis</i> *	2,52 %	0,21
		<i>Derocalymma</i> sp.1*	3,42 %	0,3
		<i>Derocalymma</i> sp.2	2,32 %	0,25
		<i>Elliptoblatta</i> sp.	2,32 %	0,14
	Pycnoscelinae	<i>Pycnoscelus femapterus</i>	3,59 %	0,46
		<i>Pycnoscelus indicus</i>	1,35 %	0,16
		<i>Pycnoscelus striata</i> **	3,36 %	0,19
		<i>Pycnoscelus tenebriger</i> *	4,06 %	0,29
	Zetoboriinae	<i>Capucina patula</i> *	7,44 %	0,67
		<i>Lucihormetica</i> cf. <i>verrucosa</i>	2,58 %	0,14
		<i>Lucihormetica subcincta</i>	1,74 %	0,15
		<i>Phoetalia pallida</i>	3,68 %	0,27
		<i>Schultesia lampyridiformis</i>	3,56 %	0,29
	Incertae sedis	<i>Paraplecta</i> cf. <i>Minutissima</i> **	4,55 %	0,22

Čeďed'	Podčed'	Druh	Rozdíl ♀ vs. ♂ (%)	Absolutní rozdíl ♀ vs. ♂ (pg)
Blattidae	Blattinae	<i>Blatta orientalis</i> (Ázerbajdžán)*	5,80 %	0,45
		<i>Blatta orientalis</i> (Belgie)*	6,23 %	0,49
		<i>Blatta orientalis</i> (Bulharsko)*	5,53 %	0,43
		<i>Blatta orientalis</i> (Portugalsko)*	6,12 %	0,47
		<i>Deropeltis bueana</i>	4,76 %	0,39
		<i>Deropeltis erythrocephala</i>	1,68 %	0,19
		<i>Deropeltis madecassa</i>	3,68 %	0,35
		<i>Deropeltis paulinoi</i>	3,66 %	0,31
		<i>Deropeltis</i> sp. JAR	3,02 %	0,3
		<i>Deropeltis</i> sp. SOM*	3,41 %	0,31
		<i>Hebardina</i> sp.	3,42 %	0,44
		<i>Hebardina ugandana</i>	4,53 %	0,27
		<i>Neostylopyga rhombifolia</i>	4,65 %	0,29
		<i>Periplaneta americana</i> *	1,98 %	0,15
		<i>Periplaneta australasiae</i> *	5,57 %	0,62
		<i>Periplaneta brunnea</i>	3,66 %	0,48
		<i>Periplaneta fuliginosa</i>	4,58 %	0,46
		<i>Pseudoderopeltis</i> sp.	0,82 %	0,09
		<i>Shelfordella tartara</i>	2,41 %	0,16
	Polyzosteriinae	<i>Eurycotis decipiens</i>	1,36 %	0,15
		<i>Eurycotis floridana</i> (Sarasota)	5,55 %	0,65
		<i>Eurycotis floridana</i> (Torch Key)	4,43 %	0,53

Čeleď	Podčeleď	Druh	Rozdíl ♀ vs. ♂ (%)	Absolutní rozdíl ♀ vs. ♂ (pg)
Blattidae	Polyzosteriinae	<i>Eurycotis opaca</i> A*	8,02 %	0,95
		<i>Eurycotis opaca</i> B	6,00 %	0,68
		<i>Melanozosteria nitida</i>	3,12 %	0,22
		<i>Polyzosteriinae</i> sp.	1,39 %	0,13
Corydiidae	Corydiinae	<i>Arenivaga tonkawa</i>	4,61 %	0,32
		<i>Ergaula capucina</i>	5,05 %	1,01
		<i>Eucorydia yasumatsui</i>	3,77 %	0,28
		<i>Eupolyphaga sinensis</i>	3,64 %	0,16
		<i>Polyphaga aegyptiaca</i> EGY	4,42 %	0,21
		<i>Polyphaga aegyptiaca</i> GRU*	4,20 %	0,2
		<i>Polyphaga aegyptiaca</i> KOR*	3,85 %	0,18
		<i>Polyphaga aegyptiaca</i> TUN*	3,78 %	0,18
		<i>Polyphaga saussurei</i> *	5,02 %	0,31
		<i>Therea olegrandjeani</i> **	6,80 %	2,24
		<i>Therea petiveriana</i> *	3,76 %	0,91
		<i>Therea regularis</i> *	5,75 %	1,28
	Holocompsinae	<i>Holocompsa nitidula</i>	0,29 %	0,01
		<i>Compsodes schwarzi</i>	2,80 %	0,13
Ectobiidae	Blattellinae	<i>Asiablatta kyotensis</i>	3,01 %	0,2
		<i>Blattella germanica</i> *	4,42 %	0,2
		<i>Blattella vaga</i>	5,00 %	0,33
		<i>Episymphloe sundaica</i> *	2,82 %	0,14

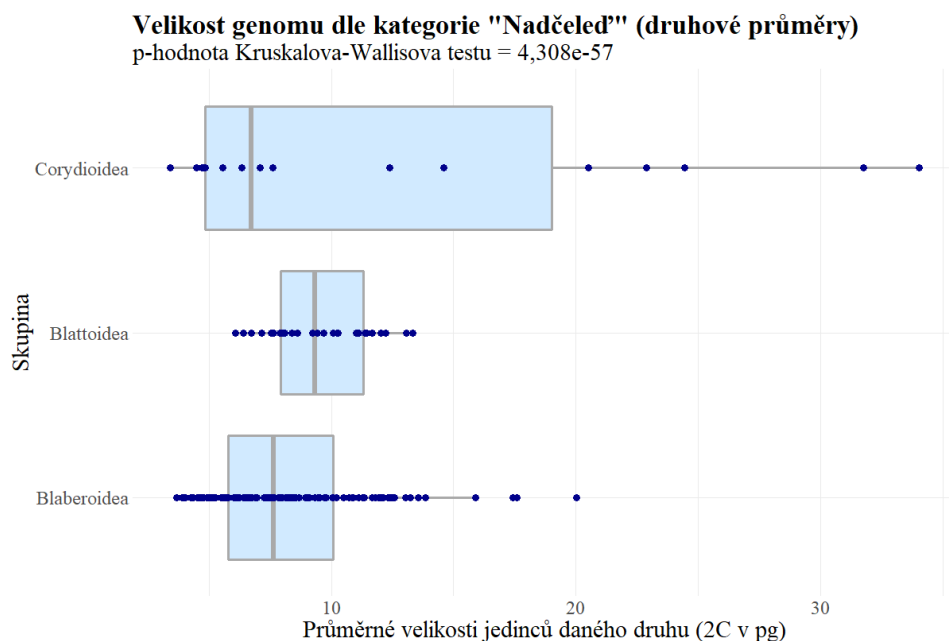
Čeleď	Podčeleď	Druh	Rozdíl ♀ vs. ♂ (%)	Absolutní rozdíl ♀ vs. ♂ (pg)
Ectobiidae	Blattellinae	<i>Hemithyrsochera palliata</i> *	5,13 %	0,24
		<i>Ischnoptera rufa</i>	1,31 %	0,08
		<i>Loboptera decipiens</i>	1,57 %	0,08
		<i>Lobopterella dimidiatipes</i> *	5,06 %	0,34
		<i>Paratemnopteryx coultoniana</i> *	3,62 %	0,32
		<i>Parcoblatta fulvescens</i>	2,02 %	0,16
		<i>Parcoblatta notha</i>	6,66 %	0,55
		<i>Pseudomops septentrionalis</i> *	3,51 %	0,22
		<i>Symphloe macroptera</i>	7,11 %	0,69
		<i>Symphloe pallens</i> *	5,40 %	0,43
	Ectobiinae	<i>Ectobius sylvestris</i> **	4,79 %	0,23
		<i>Phyllodromica maculata</i>	1,55 %	0,07
	Pseudophyllodromiinae	<i>Balta notulata</i>	1,11 %	0,08
		<i>Ellipsidion castaneum</i> **	3,72 %	0,21
		<i>Neoblattella detersa</i> *	4,24 %	0,21
		<i>Supella</i> cf. <i>Dimidiata</i> *	3,08 %	0,13
		<i>Supella longipalpa</i> *	12,13 %	0,57
		<i>Supella</i> sp.	5,30 %	0,22
	Incertae sedis	<i>Dipteretrum hanstroemi</i> *	3,64 %	0,36
Nocticolidae	Nocticolinae			
		<i>Nocticola</i> sp.	0,90 %	0,05

4.3 Velikost genomu švábů a fylogeneze

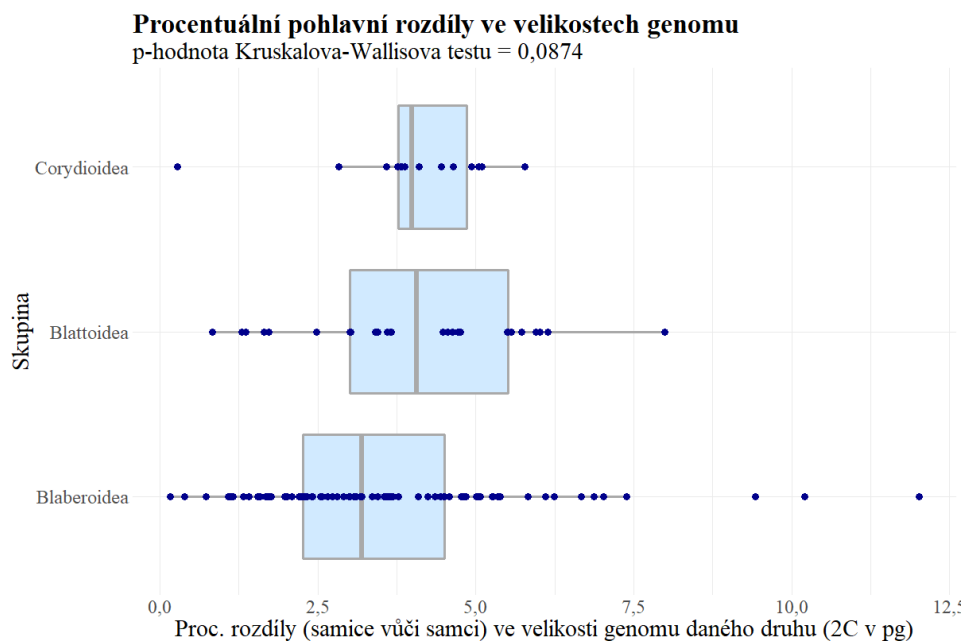
4.3.1 Závislost velikosti genomu na nadčeledi

Rozdíly v průměrných velikostech genomu mezi třemi nadčeleděmi se ukázaly být statisticky signifikantní ($p < 0,001$, viz Obrázek 4).

Naopak nebyla prokázána závislost pohlavního rozdílu ve velikosti genomu na nadčeledi (viz Obrázek 5).



Obrázek 4 – Výsledek srovnání průměrných druhových velikostí genomu mezi nad celed mi pomocí Kruskalova-Wallisova testu.

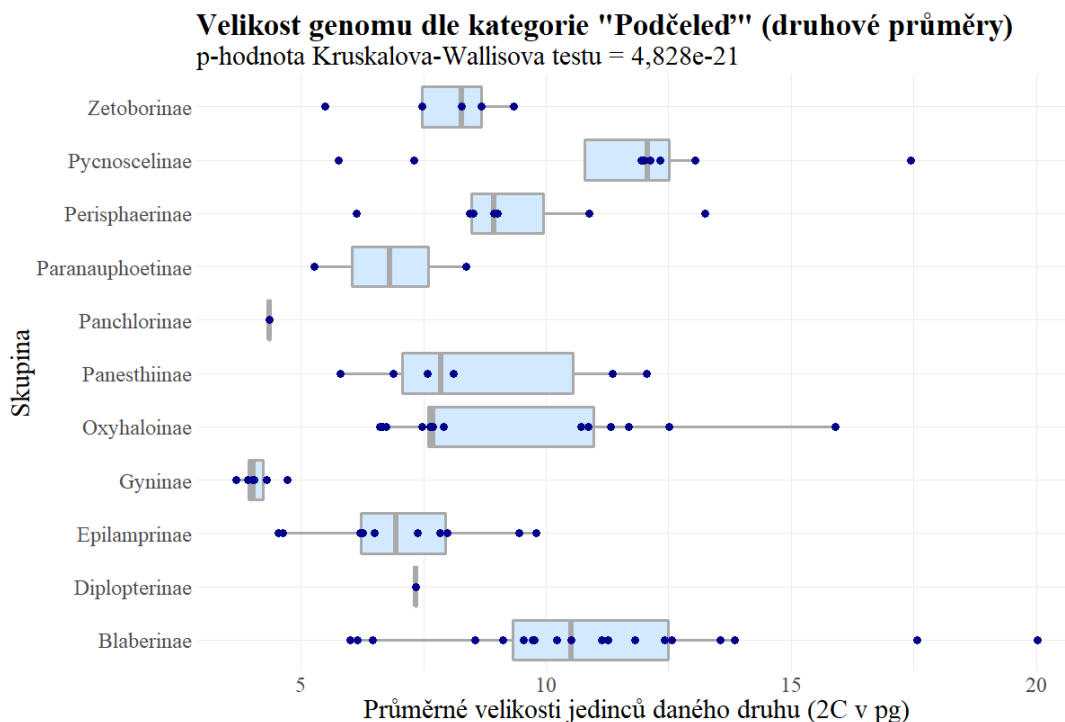


Obrázek 5 – Výsledek srovnání rozdílů průměrných velikostí genomu mezi samcem a samic i mezi nad celed mi pomocí Kruskalova-Wallisova testu.

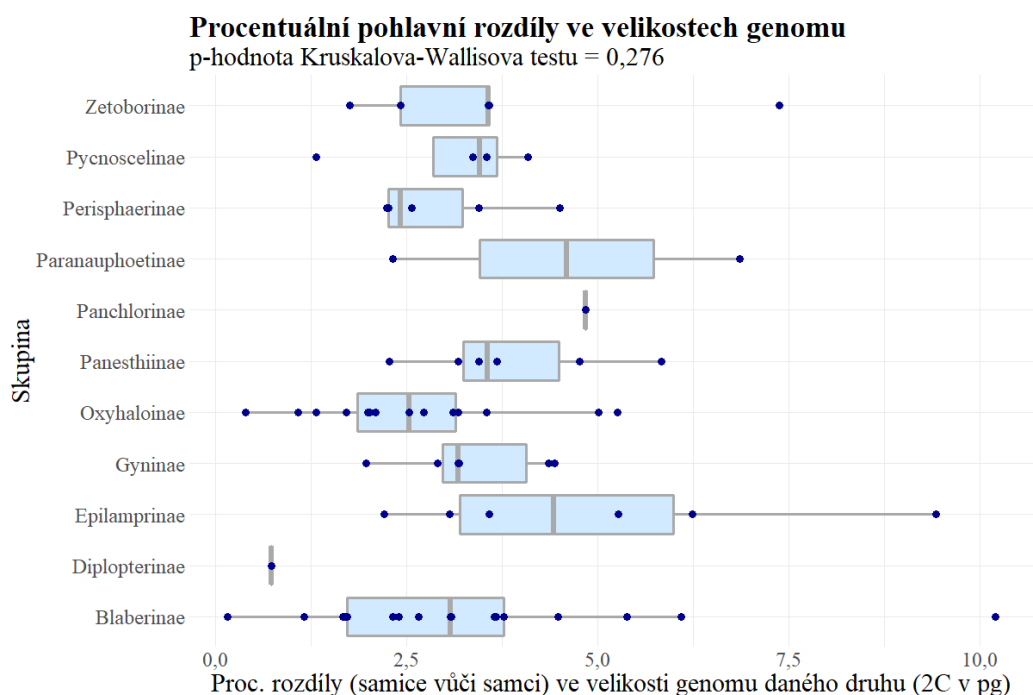
4.3.2 Závislost velikosti genomu na podčeledi

U čeledi Blaberidae byl zjištěn signifikantní rozdíl ($p < 0,001$) v průměrných velikostech genomu mezi podčeleděmi (viz Obrázek 6).

Závislost rozdílu mezi pohlavími na podčeledi u Blaberidae nebyla prokázána (viz Obrázek 7).



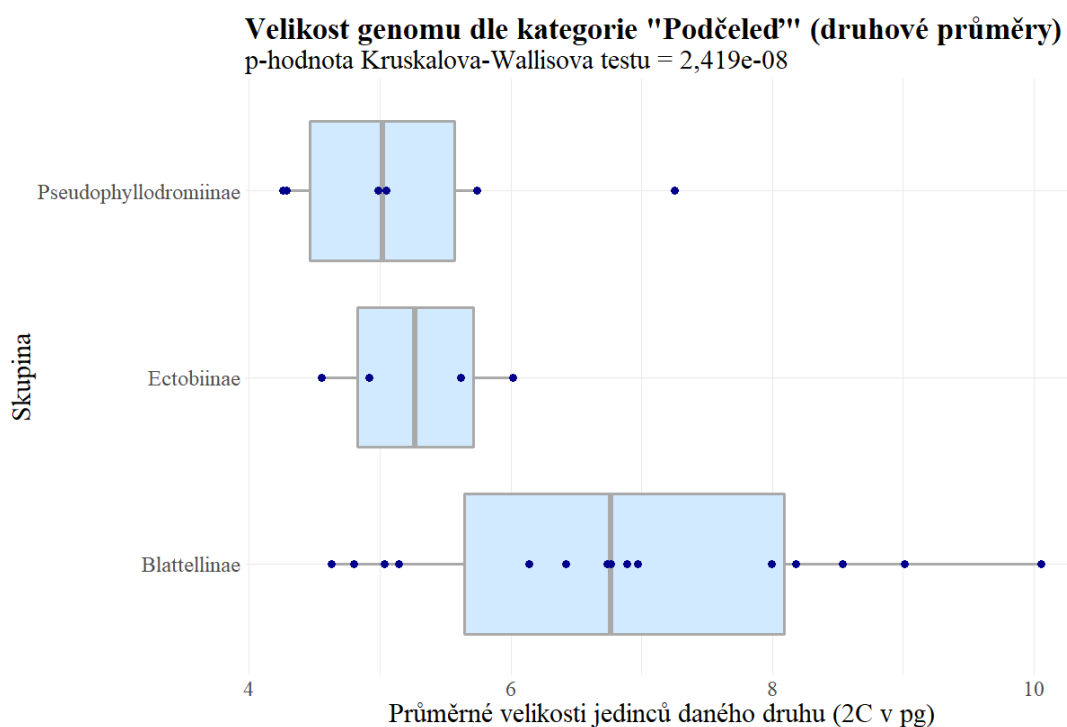
Obrázek 6 – Výsledek srovnání průměrných druhových velikostí genomu mezi podčeleděmi Blaberidae pomocí Kruskalova-Wallisova testu.



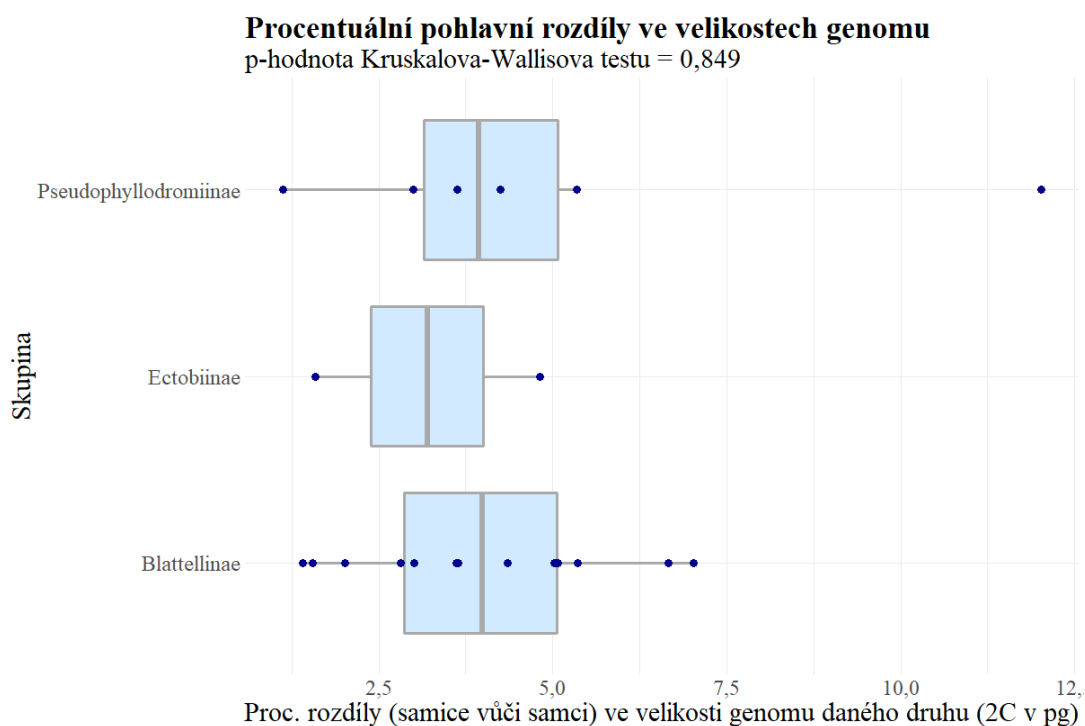
Obrázek 7 – Výsledek srovnání rozdílu průměrných velikostí genomu mezi samcem a samicí mezi podčeleděmi Blaberidae pomocí Kruskalova-Wallisova testu.

Také u čeledi Ectobiidae byl zjištěn signifikantní rozdíl ($p < 0,001$) velikostí genomu mezi podčeleděmi (viz Obrázek 8).

Opět nebyla nalezena závislost pohlavního rozdílu na podčeledi (viz Obrázek 9).

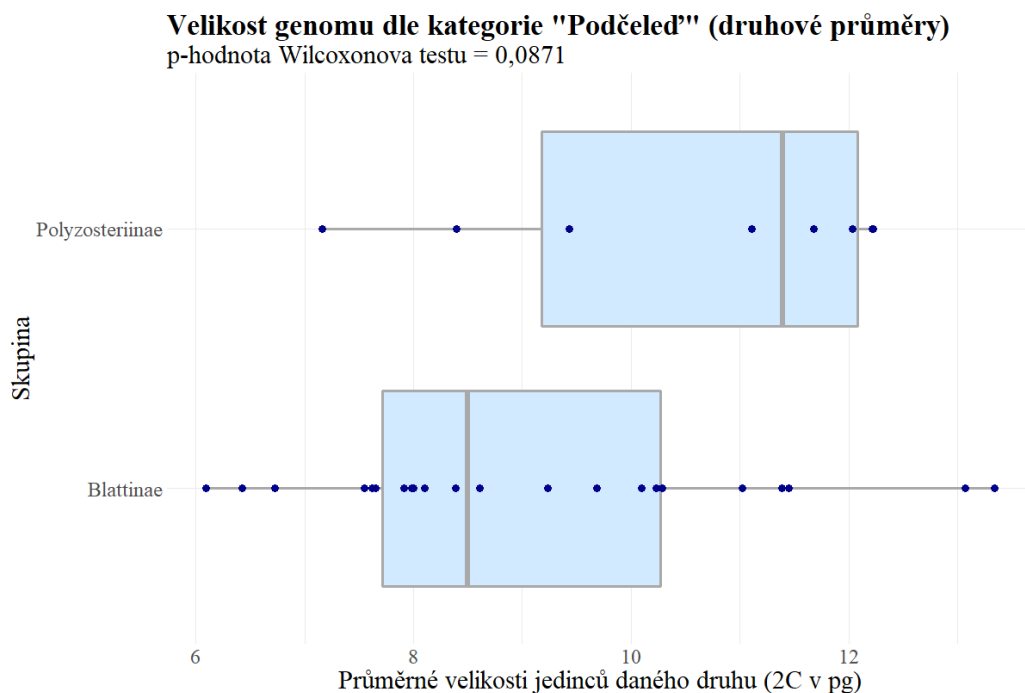


Obrázek 8 – Výsledek srovnání průměrných druhových velikostí genomu mezi podčeleděmi Ectobiidae pomocí Kruskalova-Wallisova testu.

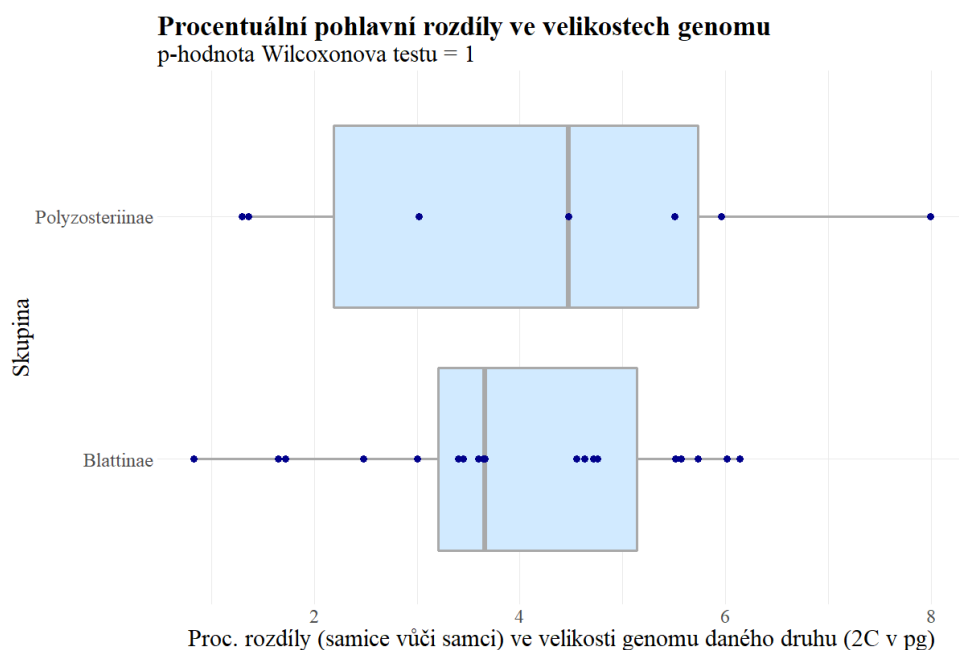


Obrázek 9 – Výsledek srovnání rozdílů průměrných velikostí genomu mezi samcem a samicí mezi podčeleděmi Ectobiidae.

U čeledi Blattidae naopak nebyl zjištěn signifikantní rozdíl mezi podčeleděmi (viz Obrázek 10) ani závislost pohlavního rozdílu na podčeledi (viz Obrázek 11).



Obrázek 10 – Výsledek srovnání průměrných druhových velikostí genomu mezi podčeleděmi Blattidae pomocí Wilcoxonova testu.

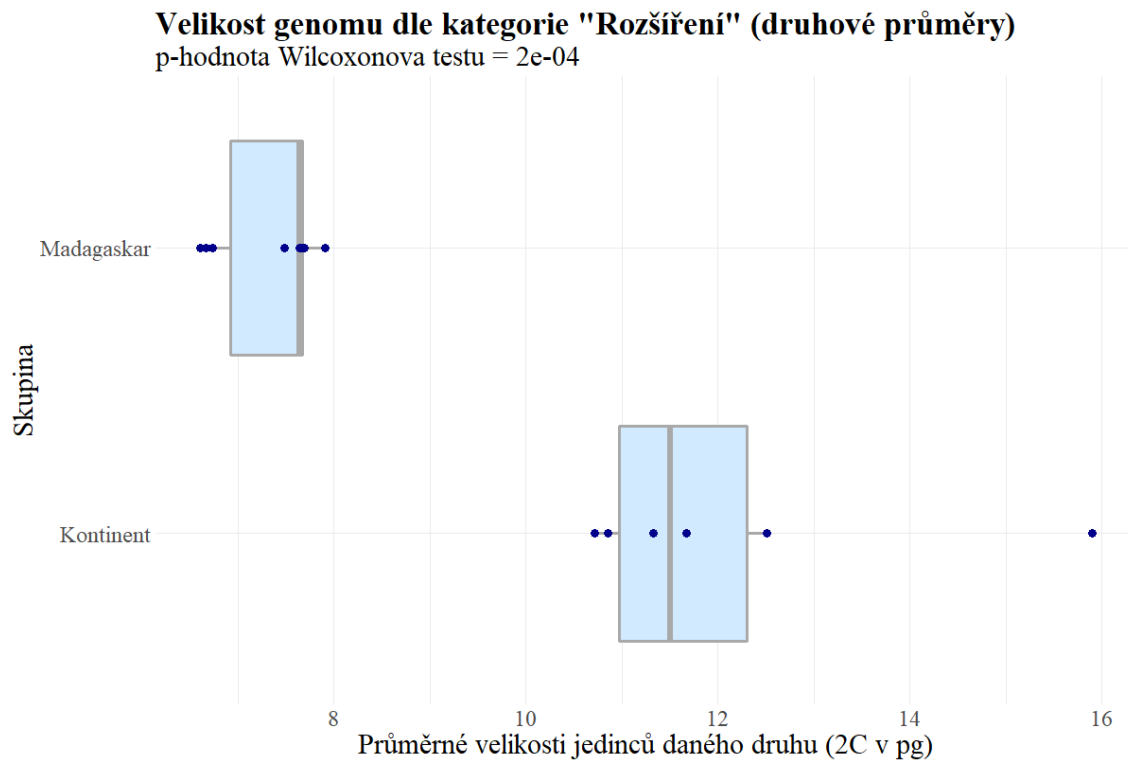


Obrázek 11 – Výsledek srovnání rozdílů průměrných velikostí genomu mezi samcem a samicí mezi podčeleděmi Blattidae pomocí Wilcoxonova testu.

Pro porovnání podčeledí v rámci čeledi Corydiidae nebyl dostatek dat, jelikož většina zde měřených druhů spadá do podčeledi Corydiinae. Z podčeledí Eutyrrhaphinae, Holocompsinae a Latindiinae bylo měřeno jen po jednom druhu.

4.3.3 Rozdíly v rámci podčeledí

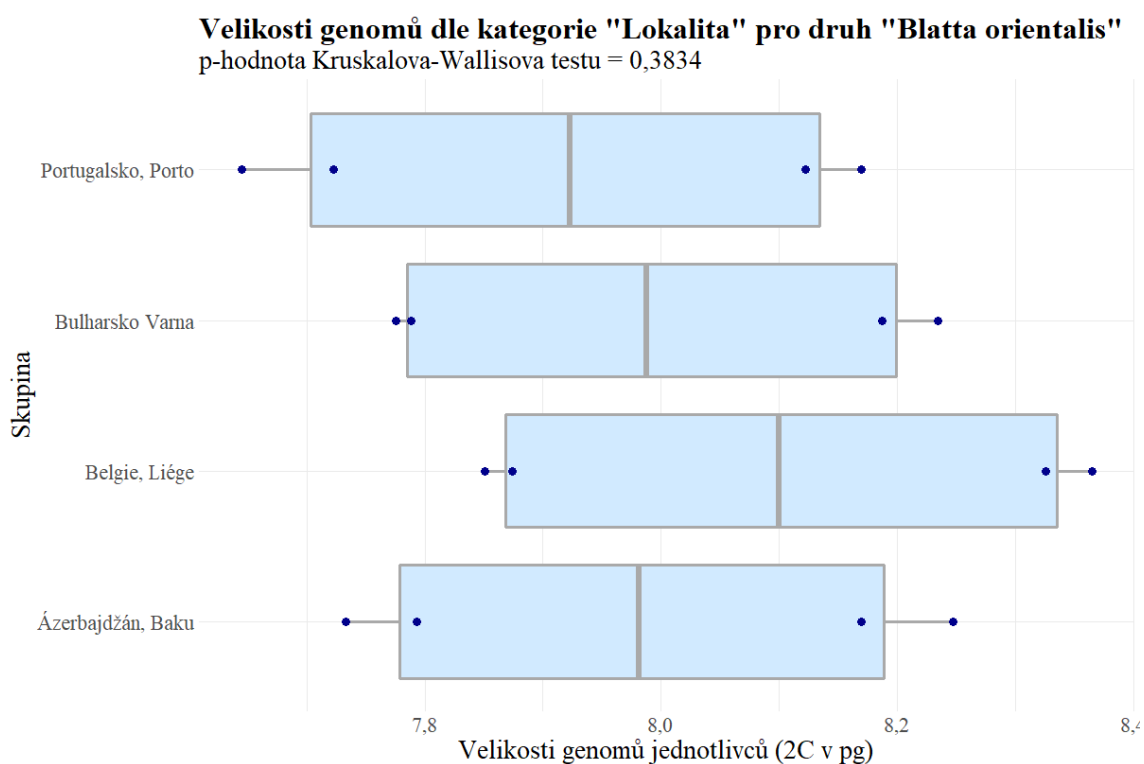
U podčeledi Oxyhaloinae (Blaberidae) byl prokázán významný rozdíl ($p = 0,0002$, viz Obrázek 12) mezi velikostí genomu u kontinentálních (rody *Henschoutedenia*, *Rhyparobia*, *Oxyhaloa*, *Simandoa* a *Nauphoeta*) a madagaskarských druhů (rody *Elliptorhina*, *Gromphadorhina*, *Princisia* a *Aeluropoda*).



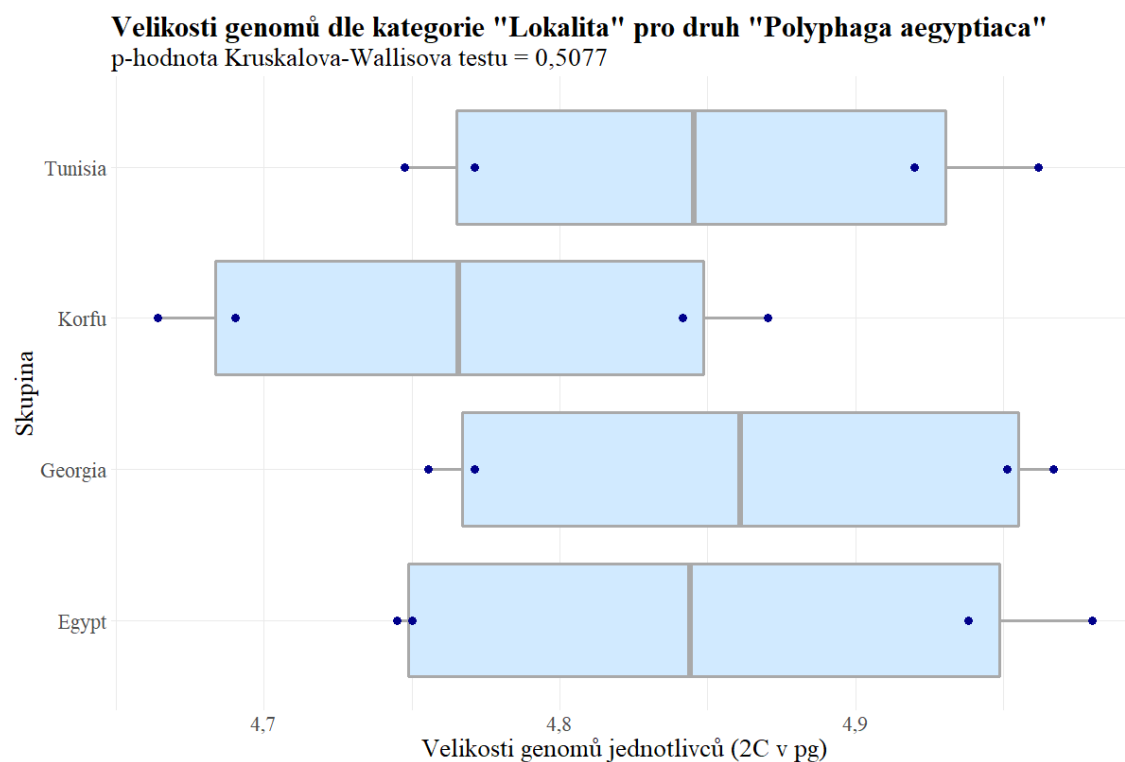
Obrázek 12 – Výsledek srovnání velikostí genomu mezi kontinentálními a madagaskarskými druhy podčeledi Oxyhaloinae (Blaberidae) pomocí Wilcoxonova testu.

4.3.5 Vnitrodruhové rozdíly

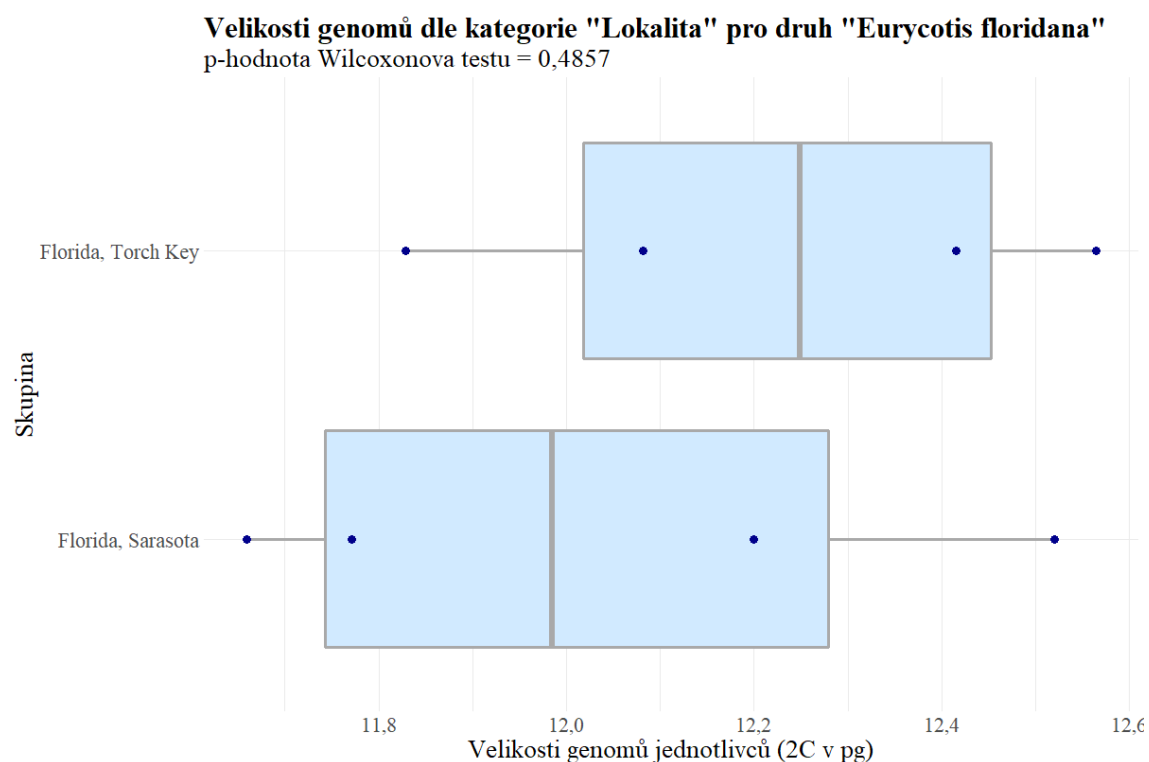
U druhů *Blatta orientalis* (Blattidae: Blattinae), *Polyphaga aegyptiaca* (Corydiidae: Corydiinae), *Pycnoscelus surinamensis* (Blaberidae: Pycnoscelinae), *Eurycotis floridana* a *Eurycotis opaca* (Blattidae: Polyzosteriinae) byli k dispozici jedinci pocházející z různých lokalit, respektive v posledním v případě jedinci ze dvou různých chovů. Rozdíly ve velikosti genomu mezi lokalitami nebyly u většiny druhů vyhodnoceny jako statisticky významné (viz Obrázek 13, Obrázek 14, Obrázek 15 a Obrázek 16). Jedinou výjimkou je druh *Pycnoscelus surinamensis* (viz Obrázek 17).



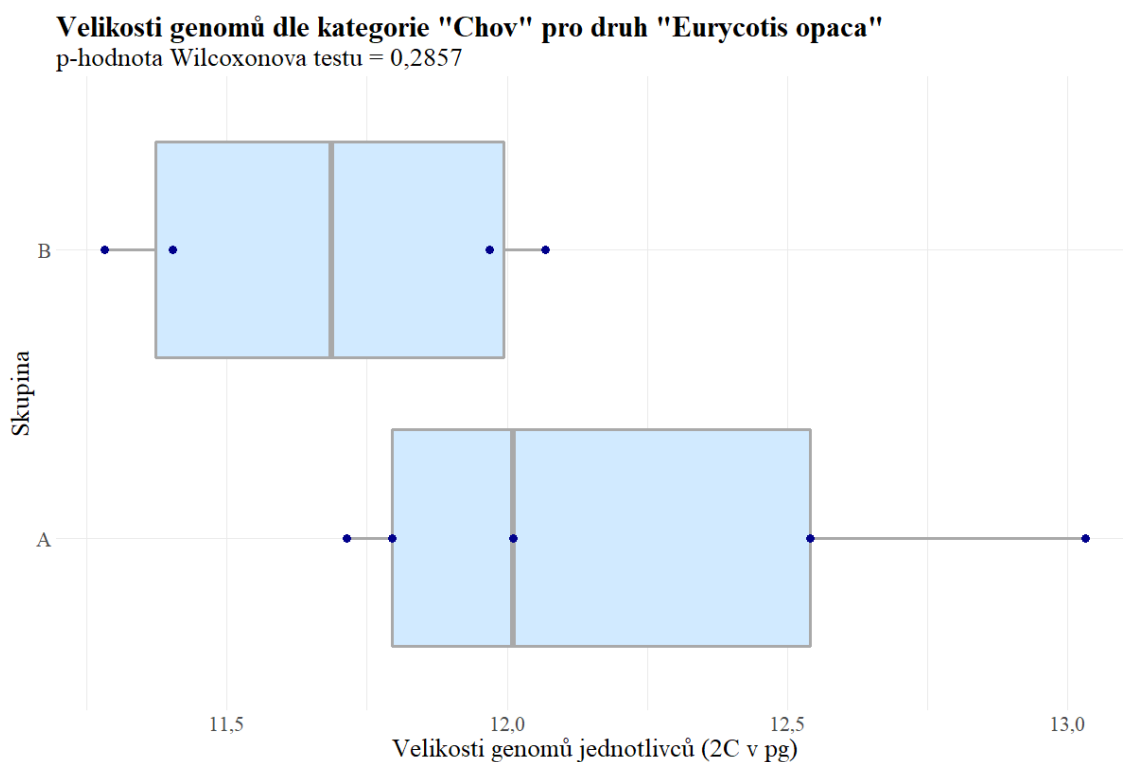
Obrázek 13 – Výsledek srovnání velikostí genomu mezi jedinci původem z různých lokalit u druhu *Blatta orientalis* pomocí Kruskalova-Wallisova testu.



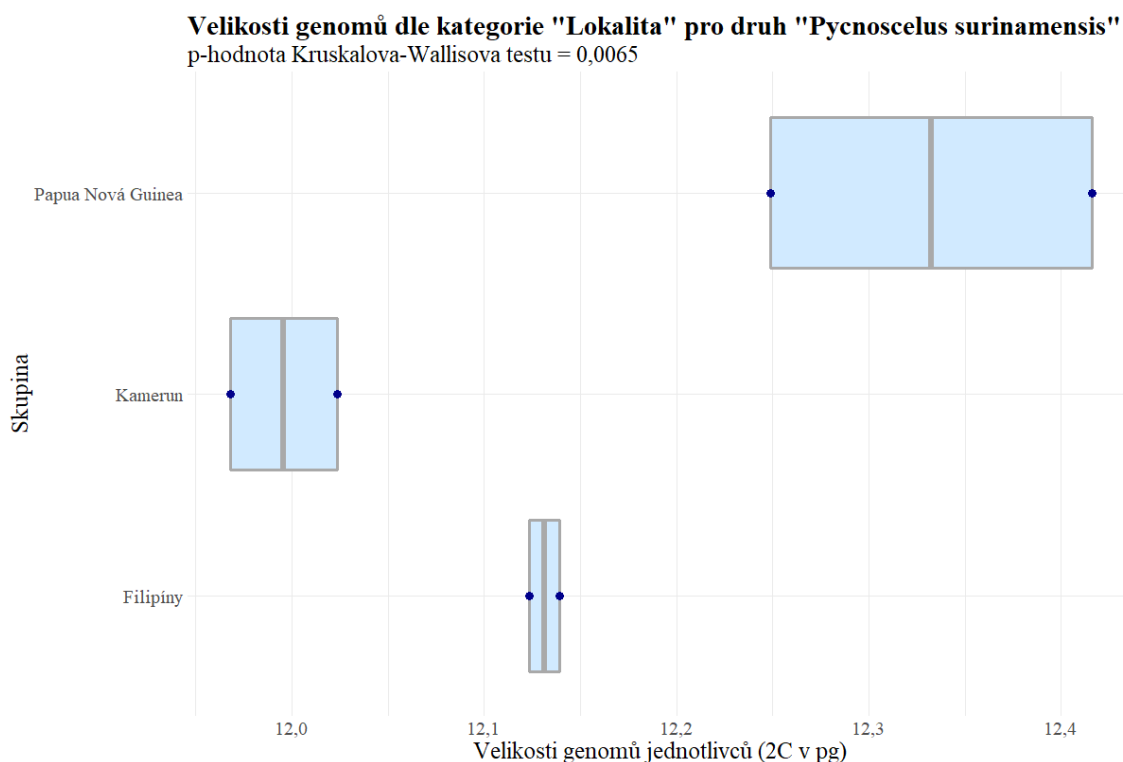
Obrázek 14 – Výsledek srovnání velikostí genomu mezi jedinci původem z různých lokalit u druhu *Polyphaga aegyptiaca* pomocí Kruskalova-Wallisova testu.



Obrázek 15 – Výsledek srovnání velikostí genomu mezi jedinci původem z různých lokalit u druhu *Eurycotis floridana* pomocí Wilcoxonova testu.



Obrázek 16 – Výsledek srovnání velikostí genomu mezi jedinci původem z různých chovů u druhu *Eurycotis opaca* pomocí Wilcoxonova testu.



Obrázek 17 – Výsledek srovnání velikostí genomu mezi jedinci původem z různých lokalit u druhu *Pycnoscelus surinamensis* pomocí Kruskalova-Wallisova testu

5 Diskuse

5.1 Úskalí cytometrie hmyzu

5.1.1 Pohlaví

Při studiu literatury na téma velikosti genomu vyvstává hned několik problémů. Poměrně často se stává, že autoři neuvádějí pohlaví zkoumaného jedince. Tento problém ilustruje i skutečnost, že informace o pohlaví chybí i v *Animal Genome Size Database* (a to i v případě, že v původní práci tato informace zahrnuta je). Velikost genomu mezi samcem a samicí se přitom může celkem výrazně lišit, což je patrné i z výsledků této práce. Prostý průměr velikostí genomu jednotlivých jedinců pak nemůže poskytovat přesný obraz o skutečnosti, pokud pohlaví zkoumaných jedinců není zohledněno. V této práci jsme se proto snažili pokrýt obě pohlaví a jejich výsledky striktně oddělujeme. V případech, kdy není určení pohlaví zcela jisté (například u nedospělých jedinců), tuto skutečnost jasně uvádíme.

U některých druhů hmyzu a zejména u larev může být determinace pohlaví problematická. Průtoková cytometrie může být v tomto případě užitečným nástrojem pro určení pohlaví, jak dokládají i práce řady autorů (např. Nakamura et al., 1990, Canon et al., 2000, Aron et al., 2003, Vanthournout et al., 2014, Royandazagh, 2019). To může být příkladem praktického využití této metody v chovatelství či veterinární medicíně. Existuje zde také potenciál pro využití v populační a evoluční biologii (např. při výzkumu tzv. *sex allocation*), ekologii nebo ochraně přírody.

5.1.2 Nekompletní databáze

Jak již bylo řečeno, *Animal Genome Size Database* v současné podobě není kompletní, jelikož nezahrnuje nově publikovaná data minimálně z posledních dvou let. Databáze sice stále funguje jako užitečný nástroj pro vyhledávání informací a integraci znalostí, chybějící údaje z poslední doby však vnímám jako výrazný nedostatek.

Podle mého názoru by stálo za to zahájit diskusi mezi autory, kteří se zabývají danou problematikou, a autorem této webové databáze o znovuoobnovení činnosti, aktualizaci údajů, případně i modernizaci stránek ve smyslu přidání pokročilejších vyhledávacích funkcí apod. Byla by škoda, kdyby dobrý projekt, jakým *Animal Genome Size Database* bezpochyby je, odumřel a stal se neužitečným.

Kromě nekompletní databáze je klíčovým problémem i extrémně malý počet známých velikostí genomů u hmyzu. V současné době známe zhruba 300 000 druhů krytosemenných rostlin (Christenhusz a Byng, 2016) a botanická databáze *Plant DNA C-values database* (Bennett

a Leitch, 2020) obsahuje výsledky pro 10 770 z nich. Oproti tomu na 1 milion popsaných druhů hmyzu (Stork, 2018) najdeme na *Animal Genome Size Database* pouhých 1345 výsledků. Je zde tedy obrovský prostor pro další výzkum a také potřeba napravit tento nepoměr, pokud chceme lépe porozumět evoluci velikosti genomu u hmyzu a bezobratlých obecně.

5.1.3 Pojmy

Dalším úskalím je nekonzistence v používání pojmů velikost genomu, C-hodnota a obsah DNA, což je problém, kterému již byla věnována určitá pozornost (Greilhuber et al., 2005).

Pojmy velikost genomu a C-hodnota berou někteří autoři jako synonyma, zatímco jiní je definují rozdílně. Při studiu odborné literatury je tudíž třeba mít tuto skutečnost na paměti a pečlivě rozlišovat, jak konkrétní autoři s těmito pojmy nakládají. Například *Animal Genome Size Database* udává *C-value* v haploidním smyslu. V některých případech není na první pohled zřejmé, jakou definici autoři zastávají, což může být matoucí.

Greilhuber et al. (2005) navrhuje používat termín holoploidní velikost genomu (pro obsah DNA celého souboru chromozomů charakteristického pro daného jedince, zkratka C-hodnota) a monoploidní velikost genomu (zkratka Cx-hodnota). Jako pomůcka by pak měly sloužit také číselné předpony: 1C, 2C apod.

Většina prací udává velikosti genomu v 1C-hodnotách, přestože se výzkum většinou týká somatických buněk, a tudíž není možné pozorovat skutečný 1C pík. U heterogametického pohlaví pak může prosté vydělení 2C-hodnoty dvěma vést k nepřesným výsledkům (Sadílek et al., 2019). U řady druhů navíc může situaci komplikovat přítomnost B chromozomů či polyploidizace a bez karyotypové analýzy tak nelze výsledky jednoznačně interpretovat. Protože ani v této práci nebyly analyzovány gametické buňky a předpokládáme, že většina švábů je diploidní, jsou zde výsledky uváděny vždy jako 2C-hodnota v holoploidním smyslu. U většiny švábů je předpokládán systém určení pohlaví XX/XO (Blackmon et al., 2017) vzhledem k lichým diploidním počtům chromozomů u samců (Cohen a Roth, 1970). Polyploidie u hmyzu bývá často spojená s partenogenezí (Ghiselli et al., 2007), v případě švábů se tento jev týká partenogenetického druhu *Pycnoscelus surinamensis*, u něhož existují kromě diploidních i triploidní klonální linie. Kromě tohoto případu zatím nebyla polyploidie u švábů dokázána, její existenci však nemůžeme vyloučit.

5.1.5 Výběr standardů

Zásadní otázkou v cytometrii je samozřejmě výběr standardů. Pro tento účel je využívána pestrá škála druhů rostlin i živočichů (pro některé z nich viz Obrázek 18) a v některých případech dokonce různí autoři využívají stejné standardy, avšak s odlišnými předpokládanými C-hodnotami, což je logicky zdrojem problémů. V rámci jednoho druhu bývají poměrně často publikovány různé hodnoty velikosti genomu. Bez dalšího výzkumu většinou nelze jednoznačně říct, zda jsou rozdíly způsobené rozdílnou metodikou, rozdílnými standardy, nebo jde o skutečnou vnitrodruhovou variabilitu.

REFERENCE STANDARD	KEY ADVANTAGE(S)	KEY DISADVANTAGE(S)
Plants^a		
<i>Allium cepa</i> (onion)	Reliably determined genome size	Very large genome size, low nuclei yield
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Nearly-sequenced species, some mutants with low levels of secondary metabolites (e.g., flavonoid-free)	Very small genome size, intraspecific variation up to 1.1-fold reported, high level of endopolyploidy (low amount of G0/G1 nuclei)
<i>Solanum lycopersicum</i> (tomato)	Rapid growth, easy to cultivate	Presence of polyphenolic compounds, often large proportion of G2 nuclei
<i>Hordeum vulgare</i> (barley)	Rapid growth, easy to cultivate, stable genome size	Genome size above optimum for the majority of angiosperms
<i>Oryza sativa</i> (rice)	Nearly-sequenced species	Very small genome size
<i>Petunia hybrida</i> (petunia)	Rapid growth, easy to cultivate	Not sufficiently tested for genome size stability
<i>Pisum sativum</i> (pea)	Genome size stability, low level of secondary metabolites, well proven for both fluorometric and densitometric techniques	Genome size above optimum for the majority of angiosperms
<i>Zea mays</i> (maize)	Rapid growth, easy to cultivate, suitable genome size	Intraspecific variation up to 30% reported, highly dynamic transposable elements
Animals^b		
<i>Betta splendens</i> (Siamese fighting fish)	Easy to culture	Small genome size
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematode)	Fully-sequenced species	Very small genome size
<i>Gallus domesticus</i> (chicken)	Easily available, suitable genome size	Considerable variation between different strains and variation due to sex chromosomes
<i>Homo sapiens</i> (human)	Nearly-sequenced, easily available	Sex-related variation
<i>Oncorhynchus mykiss</i> (rainbow trout)	Easily available, suitable genome size	Chromosomal polymorphism between different strains
<i>Rana pipiens</i> (northern leopard frog)	Easy to culture	Genome size above optimum

Obrázek 18 – Tabulka srovnávající výhody a nevýhody některých běžně používaných standardů. Převzato ze Suda a Leitch (2010).

Jedním z hojně využívaných standardů je i člověk, konkrétně mužské leukocyty. Jejich použití doporučují i Doležel a Greilhuber (2010), je však důležité zmínit, že jimi navržená 2C-hodnota 7 pg je nejspíš mírně nadhodnocená. V případě používání jednotné sady standardů by však podle jejich návrhu mělo být jednoduché starší výsledky následně opravit, pokud by došlo k upřesnění velikosti genomu standardu. Muselo by pak ovšem dojít k hromadné revizi starších dat a výsledky by se měly publikovat ideálně prostřednictvím databáze, aby se zamezilo dalšímu přejímání starých a neaktuálních velikostí genomu z původních článků.

Jak už bylo řečeno v úvodní části práce, ideální standard představují druhy s osekvenovaným genomem. Bohužel se velice často jedná o druhy se spíše menší C-hodnotou (například *Caenorhabditis elegans* s $1C = 0,1$ pg podle C. elegans Sequencing Consortium, 1998, nebo *Drosophila melanogaster* s $1C = 0,18$ pg podle Adams et al., 2000), proto nejsou vhodnou volbou pro srovnání s řadou druhů hmyzu, které často vykazují hodnoty mnohokrát vyšší, jak je zřejmé i z výsledků této práce. Navíc u sekvenování stále přetrvávají některé problémy, které nám nedovolují získat skutečně kompletní celogenomovou sekvenci (Treangen a Salzberg, 2012).

Také v cytometrii hmyzu již byla vyzkoušena celá řada standardů z řad obratlovců (např. *Homo sapiens*, *Gallus domesticus*, *Tetraodon fluviatilis*, *Mus musculus*), hmyzu (např. *Drosophila melanogaster*, *D. virilis*, *Periplaneta americana*, *Apis mellifera*) i rostlin (např. *Bellis perennis*, *Raphanus sativus*, *Solanum lycopersicum*) (Gregory, 2020).

Obecně není příliš doporučováno použití rostlin jako standardů pro studium živočichů a naopak, vzhledem k některým odlišným vlastnostem živočišných a rostlinných buněk (Greilhuber et al., 2007, Suda a Leitch, 2010). Nicméně jak dokazují některé studie (Rodrigues et al., 2016, Sadílek et al., 2019), použití rostlinných standardů pro cytometrii hmyzu je za určitých podmínek vhodnější. To je případ i této práce. Zde zvolené standardy byly v tomto případě lépe dostupné, ověřené v praxi a jejich velikosti genomu byly vhodnější ke srovnávání s poměrně velkými genomy švábů.

5.1.6 Sekundární metabolity

Sekundární metabolity a důsledky jejich přítomnosti pro cytometrii jsou otázkou řešenou hlavně u rostlin. Cytometrická měření v botanice komplikuje například přítomnost taninů (Loureiro et al., 2006), různých organických kyselin, alkaloidů či slizovitých látek (Nath et al., 2014). Přítomnost těchto látek může ovlivňovat míru fluorescenčního barvení a tím i kvalitu analýzy (Greilhuber, 2008) a v konečném důsledku tak může vést například k nesprávným předpokladům o vnitrodruhové variabilitě velikosti genomu (Noirot et al., 2002).

Tyto problémy jsou do jisté míry řešitelné například použitím jiných částí rostliny, vhodného pufru (Loureiro et al., 2006, Sadhu et al., 2016) a sledováním bočního rozptylu světla (*side scatter*) při cytometrické analýze, jelikož jeho hodnoty mohou napovědět přítomnost sekundárních metabolitů.

S řadou zajímavých látek se ale setkáme i u živočichů, kteří je využívají zejména k chemické obraně. Obecně se dá říct, že chuťově odporné, nepříjemně zapáchající, dráždivé či dokonce jedovaté látky obsahuje celá řada druhů hmyzu a ani švábi nejsou v tomto ohledu výjimkou.

Chemická obrana je běžná u čeledi Blattidae, k obraně je zde využíván zejména hex-2-enal (u Polyzosteriinae /Farine et al., 2000/) nebo benzochinony (někteří Blattinae, ale také Diploptera z čeledi Blaberidae /Baldwin et al., 1990/). U většiny Blattinae dochází také k vylučování lepivých sekretů na konci abdomenu a na cercích. Vliv těchto látek na kvalitu fluorescenčního barvení není příliš známý, předpokládám však, že nebude zcela zanedbatelný. Při přípravě vzorků jsem u některých druhů například pozorovala pomalejší filtraci, což může být důsledkem přítomnosti nějakého typu látek zvyšujících viskozitu suspenze. Obranné látky se sice tvoří především v tergálních žlázách, přesto není možné zcela vyloučit případnou kontaminaci vzorku těmito problematickými chemikáliemi. Tento problém by tedy zcela jistě stál za bližší prozkoumání.

5.2 Rozdíl mezi samci a samicemi

Výsledky této práce umožnily také srovnání velikostí genomu mezi samci a samicemi. V řadě prací, jež se zabývaly velikostí genomu hmyzu, nebylo pohlaví determinováno či uvedeno (např. Matsubayashi a Ohshima, 2015, Gandhi Gracy et al., 2019) a v některých případech bylo zanedbáno a výsledky pro obě pohlaví byly sloučeny (např. Cornette et al., 2015). Jiné práce přitom ukázaly, že pohlavní rozdíl ve velikosti genomu je alespoň u některých druhů statisticky signifikantní (Hanrahan a Johnston, 2011, Picard et al., 2012, Gassner et al., 2014, He et al., 2016, Rodrigues et al., 2016). Předkládaná práce poskytuje zatím druhově nejobsáhlejší srovnání pohlavních rozdílů ve velikosti genomu u hmyzu.

Zde prezentované výsledky ukazují, že ani u švábů není vliv pohlaví zanedbatelný. Vzhledem k pravděpodobnému systému určení pohlaví XX/XO jsem předpokládala, že samice švábů budou mít genomy o něco větší. Tento předpoklad se potvrdil, i když statisticky signifikantní rozdíl byl nalezen pouze u 53 druhů (podle výsledků t-testu, viz Tabulka 4).

Zde uvedené pohlavní rozdíly je třeba brát spíše jako orientační, jelikož zatím nemáme dostatek dat pro potvrzení, že je rozdíl u daných druhů stabilní. Nemůžeme vyloučit existenci větší vnitrodruhové variability, než jsme byli schopni zachytit.

Určení velikosti genomu a pohlavního rozdílu ve velikosti genomu může být komplikovanější, pokud se v populaci daného druhu vyskytují různé morfotypy, jak ukazují naše data pro druh *Therea olegrandjeani* (viz Tabulka 3). Velikost genomu u konkrétního jedince daného druhu tedy nemusí souviset pouze s pohlavím, ale i s dalšími charakteristikami.

5.3 Velikost genomu a fylogeneze

Fylogeneze švábů není jednoznačně rozřešená ani na úrovni nadčeledí (viz kapitola 1.3), natož pak na úrovni podčeledí a nižší. Přesto se zde pokusím okomentovat souvislost fylogenetické příslušnosti a velikosti genomu.

Čeleď Corydiidae se ukázala být z hlediska velikosti genomu poměrně zajímavá. Překvapivé bylo už rozpětí C-hodnot – 3,41 pg až 35,17 pg (tedy více než desetinásobek). Do této čeledi tak spadá nejmenší i největší genom analyzovaný v této práci. Čeleď Corydiidae přitom není druhově nikterak obsáhlá (viz Tabulka 6), tudíž se zdá, že rozpětí velikostí genomu nesouvisí s druhovou bohatostí čeledi. V kontrastu s Corydiidae má druhově nejbohatší čeleď Ectobiidae rozpětí C-hodnot naopak nejmenší, což by mohlo napovídat, že přílišný nárůst velikosti genomu by mohl naopak působit jako speciální omezení.

Nadčeledi Blaberoidea byla v nedávné době věnována poměrně detailní studie (Djernæs et al., 2020), která objasnila některé

vztahy. Původní čeleď Ectobiidae je dnes rozdělena do čtyř nových čeledí, ty by však měly víceméně odpovídat původním podčeledím. Podčeleď Ectobiinae je (pokud pomineme podčeleď Nyctiborinae, která v této práci není zahrnuta) z těchto podčeledí nejméně druhově bohatá a má i nejmenší rozpětí velikostí genomu (ovšem je třeba podotknout, že zde byly analyzovány pouze 2 pravděpodobně blízce příbuzné rody – *Ectobius* a *Phyllodromica*). Největší rozpětí nacházíme u podčeledi Blattellinae, z níž největší velikosti genomu dosahuje druh *Symploce macroptera* ($2C_{\text{♀}} = 10,40$ pg). Rod *Symploce* je poměrně druhově bohatý, tudíž se nezdá, že by navýšení obsahu DNA u tohoto rodu vedlo k nějakému speciálnímu omezení,

Čeleď/Podčeleď	Počet druhů*	Nejmenší genom (pg)	Největší genom (pg)
Corydiidae	261	3,41	35,17
Ectobiidae	2063	4,15	10,40
Blattellinae	845	4,53	10,40
Pseudophyllodromiinae	855	4,15	7,29
Ectobiinae	168	4,52	6,01
Blaberidae	1109	3,58	20,20
Blaberinae	113	5,92	20,20
Epilamprinae	441	4,62	9,8
Gyninae	43	3,58	4,82
Oxyhaloinae	78	6,55	16,31
Panesthiinae	112	5,71	12,34
Paranauphoetinae	22	5,09	8,46
Perisphaerinae	174	6,04	13,24
Pycnoscelinae	22	5,66	13,28
Zetoborinae	52	5,42	9,68
Blattidae	656	5,96	13,58
Blattinae	332	5,96	13,58
Polyzosteriinae	305	7,05	12,79

Tabulka 5 – Počet druhů v jednotlivých čeledích/podčeledích ve srovnání s rozpětím zde naměřených velikostí genomu. Do srovnání nebyly zahrnuty skupiny, u kterých byl analyzován pouze jediný druh.

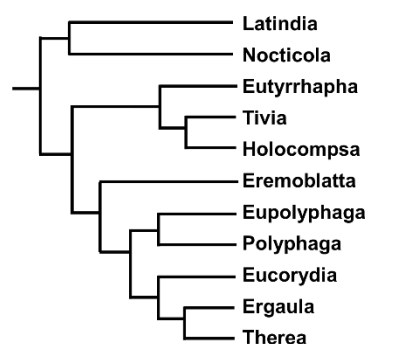
*podle Beccaloni (2020)

nicméně velikosti genomu jsou zatím známy jen pro dva druhy tohoto rodu. Je zajímavé zmínit, že u odvozenějších druhů Blatellinae (rody *Blattella* a *Loboptera*) došlo k redukci velikosti genomu oproti druhům topologicky bazálnějším (rody *Symploce* a *Paratemnopteryx*). Medián velikosti genomu čeledi Ectobiidae je však 6,01 pg, tudíž je pro tuto čeleď typická spíše malá (i když ne extrémně malá) velikost genomu.

V rámci Blaberidae opět pro srovnání chybí řada důležitých rodů, i zde však lze vystopovat určité trendy. Po Corydiidae jsou Blaberidae další skupinou, která se v některých případech vydala cestou poměrně objemných genomů. Ty najdeme zejména v podčeledi Blaberinae a také u rodu *Pycnoscelus* (Pycnoscelinae) a *Salganea* (Panesthiinae). Naopak poměrně malá podčeleď Gyninae si zachovala na poměry švábů drobné genomy ($2C = 3,58\text{--}4,82$ pg), tudíž zde případná souvislost menších genomů s větší druhovou bohatostí patrná není. Ostatní skupiny se většinou pohybují ve středních hodnotách okolo 6–9 pg.

Pokud se vrátíme k nadčeledi Corydioidea, musíme se zmínit o čeledi Nocticolidae, která je podle některých prací vnitřní skupinou čeledi Corydiidae a spadá do blízkosti Latindiinae (Djernæs et al., 2015, Legendre et al., 2015). Nocticolidae a Latindiinae vykazují poměrně malé genomy ($\text{♀}2C = 5,59$ pg, respektive 4,78 pg). V rámci zbytku Corydiidae jsou si podle některých autorů (Legendre et al., 2015, Wang et al., 2017) blízko podčeledi Eutyrrhaphinae a Holocompsinae, přesněji řečeno Eutyrrhaphinae jsou sesterští Holocompsinae + Tiviinae (viz Obrázek 19). $2C$ -hodnota u druhu *Eutyrrhapha metallica* je 14,58 (pohlaví neznámé) a u druhu *Holocompsa nitidula* 3,42 pg (samice). Pokud by tedy platil tento fylogenetický vztah, nastává zde zajímavá situace, kdy poměrně blízce příbuzné skupiny mají radikálně odlišnou velikost genomu. Není však jasné, jaký byl ancestrální stav – měl jejich společný předek malý genom a u rodu *Eutyrrhapha* došlo k nárůstu množství DNA, nebo byl původní velký genom a u linie vedoucí k rodu *Holocompsa* došlo k redukci? Při řešení tohoto problému by mohla pomoci znalost velikostí genomu podčeledi Tiviinae, jejíž zástupce jsme bohužel neměli k dispozici.

U podčeledi Corydiinae je oproti tomu patrný trend ke zvětšování velikosti genomu u odvozenějších skupin. Bazálněji umístěné sesterské rody *Polyphaga* a *Eupolyphaga* mají genomy ještě poměrně malé ($2C = 4,40\text{--}6,49$ pg), odvozenější rod *Eucorydia* o něco větší ($2C\text{♀} = 7,70$ pg) a u nejodvozenějších sesterských rodů *Ergaula* ($2C = 12,38\text{--}31,75$ pg) a *Therea* ($2C = 22,25\text{--}35,17$) můžeme pozorovat výrazný nárůst ve velikosti genomu.



Obrázek 19 – Fylogenetický strom Corydioidea podle Legendre et al. (2015)

Nadčeď Blattoidea je význačná zejména tím, že její součástí jsou také termiti (Isoptera). Termiti obecně vykazují poměrně malé velikosti genomu ($2C = 1,16$ pg až $3,8$ pg /Gregory, 2020/) a jejich nejbližší příbuzní v rámci švábů jsou jim v tomto ohledu velice blízcí – pro druhy *Cryptocercus punctulatus* a *C. kyebangensis* byly publikovány $2C$ -hodnoty $2,64$ pg, respektive $2,32$ pg (Koshikawa et al., 2008).

Z dosavadních výzkumů vyplývá, že variabilita velikosti genomu je mezi šváby mnohem větší než mezi termity. Je tedy možné, že za poměrně malými genomy termitů (alespoň na poměry hemimetabolního hmyzu a řádu Blattodea) stojí nějaké evoluční omezení, možná související s eusociálním způsobem života. Vzhledem k tomu, že podobně malé genomy nacházíme i u rodu *Cryptocercus* (Koshikawa et al., 2008), je možné se domnívat, že malá velikost genomu mohla být jednou z preadaptací, které přispěly ke vzniku eusociality a tím i evolučního úspěchu termitů. Možná souvislost omezení velikosti genomu a eusociality byla již dříve zmíněna některými autory, zatím se však tento vztah nepodařilo prokázat (Koshikawa et al., 2008, Ardila-Garcia et al., 2010).

Za nejpravděpodobnější blízké příbuzné skupiny Cryptocercidae + Isoptera jsou v současné době považovány čeledi Anaplectidae, Lamproblattidae či Tryonicidae (Murienne, 2009, Djernæs et al., 2015, Legendre et al., 2015, Bourguignon et al., 2018, Evangelista et al., 2019). Bohužel se pro účely této práce nepodařilo sehnat žádné zástupce těchto špatně dostupných čeledí. Bylo by nesporně zajímavé porovnat jejich obsahy DNA a poodhalit tak, kdy došlo k redukci velikosti genomu, jež je patrná u kladu Cryptocercidae + Isoptera.

Ohledně topologie čeledi Blattidae zatím nepanuje příliš shoda. Některé studie (Bourguignon et al., 2018, Evangelista et al., 2019) podporují monofylii podčeledi Polyzosteriinae, jiné ji považují za parafyletickou vzhledem k Blattidae (Djernæs et al., 2015). V mém datasetu bohužel chybí celá řada rodů použitých ve fylogenetických studiích (např. *Duchailluia*, *Drymaplaneta*, *Archiblatta* či *Platyzosteria*). Přesto zde mohu provést některá zajímavá srovnání. Například rod *Periplaneta* pravděpodobně není monofyletický a druh *Periplaneta americana* se zdá být poměrně vzdálený druhům *P. australasiae*, *P. fuliginosa* a *P. brunnea* (Legendre et al., 2015, Bourguignon et al., 2018). Tomu by odpovídaly i velikosti genomu, jelikož *P. americana* má znatelně menší genom ($2C_{\text{♂}} = 7,55$ pg) než ostatní druhy ($2C = 10,05$ – $13,58$ pg). Podobně mohou evoluční historii odrážet i velikosti genomu u rodu *Eurycotis*. Podle Bourguignon et al. (2018) jsou si sesterské druhy *E. opaca* ($2C_{\text{♀}} = 12,02$ – $12,79$ pg) a *E. floridana* ($2C_{\text{♀}} = 12,36$ – $12,49$ pg) a druh *E. decipiens* ($2C_{\text{♀}} = 11,18$ pg) je sesterský této dvojici. Zde také měřený druh *E. lixa* ($2C_{\text{♂}} = 8,40$ pg) bohužel nebyl do této fylogenetické analýzy zahrnutý.

5.3.1 Oxyhaloinae

Afrotropická podčeleď Oxyhaloinae je v rámci Blaberidae jednou z mála, na jejíž monofyletické povaze se autoři dlouhodobě shodují (Legendre et al., 2015, Legendre et al., 2017, Bourguignon et al., 2018, Djernæs et al., 2020). Část rodů této podčeledi se vyskytuje na africkém kontinentu a část je endemická pro Madagaskar. Madagaskarské rody (*Heminauphoeta*, *Brachynauphoeta*, *Elliptorhina*, *Aeluropoda*, *Gromphadorhina*, *Princisia*) tvoří monofyletickou skupinu uvnitř ostatních Oxyhaloinae (Djernæs et al., 2020).

V této práci bylo zkoumáno celkem 16 druhů z této podčeledi a velikosti genomů kontinentálních a madagaskarských druhů se od sebe signifikantně lišily (viz Obrázek 12). Madagaskarské druhy vykazují menší velikosti genomu ($2C=6,55 - 8,01$ pg) oproti kontinentálním ($2C = 10,63-16,31$ pg) (viz Tabulka 2). Tyto výsledky tedy naznačují, že u skupiny, která osídlila Madagaskar, došlo k redukci velikosti genomu.

Dosud publikované počty chromozomů ukazují větší počty u druhů madagaskarských (*Gromphadorhina brunneri* $2n\♂ = 63$, *G. chopardi* $2n\♂ = 75$, *G. portentosa* $2n\♂ = 63$) a menší u kontinentálních (*Nauphoeta cinerea* $2n\♂ = 37$, *Rhyparobia maderae* $2n\♂ = 23$) (Cohen a Roth, 1970). Z těchto bohužel omezených dat se tedy zdá, že v madagaskarské linii se znásobil počet chromozomů, k čemuž mohlo dojít buď polyploidizací nebo rozpadem chromozomů. Výskyt akrocentrických chromozomů (Cohen a Roth, 1970) u této skupiny by nahrával spíše druhé možnosti. Vyšší počet chromozomů a zároveň nižší velikost genomu by pak naznačovala, že v důsledku fragmentace karyotypu došlo k výrazným ztrátám DNA.

Zajímavými pro další výzkum by z tohoto hlediska mohly být rody *Brachynauphoeta* a *Heminauphoeta*, které topologicky spadají na bázi madagaskarské větve (Djernæs et al., 2020), a také rod *Jagrehnina*, jehož fylogenetické postavení je nejisté a jenž se jako jediný vyskytuje jak na pevnině, tak na Madagaskaru.

5.4 Variabilita v rámci druhů

U čtyř z pěti druhů, u nichž byli zkoumáni jedinci z různých lokalit, nebyly rozdíly vyhodnoceny jako statisticky signifikantní (viz kapitola 4.3.4), přesto v některých případech naznačují jistou variabilitu ve velikosti genomu. Například u druhu *Polyphaga aegyptiaca* (Corydiidae: Corydiinae) se zdá, že populace z Korfu má o něco menší genom než populace z ostatních lokalit. Rozdíly ve velikosti genomu mohou odrážet evoluční historii druhu, jelikož na různých lokalitách mohou působit odlišné evoluční tlaky, o to výraznější, pokud jsou populace izolované. Populace z ostrova Korfu je zřejmě o něco izolovanější a mohlo u ní dojít ke změnám, které vedly k poklesu velikosti genomu. Bylo by však předčasné v tomto ohledu

dělat jasné závěry, jelikož se jedná o srovnání jen několika jedinců. Bylo by třeba důkladnějšího proměření populace a ideálně také analýzy populací z dalších ostrovů (ideálně menších a vzdálenějších od pevniny), aby bylo možné říci, jestli a jaké změny velikosti genomu nastávají u ostrovních populací. Variabilita velikosti genomu mezi různými populacemi byla dříve studována například u komára druhu *Aedes albopictus* (Nagesh Rao a Rai, 1987) s velmi širokým areálem rozšíření. U tohoto druhu se zdá, že disperze do ostrovních areálů vedla spíše ke zvětšení velikosti genomu.

Jediný statisticky významný rozdíl ($p = 0,0065$) byl nalezen u obligátně partenogenetického druhu *Pycnoscelus surinamensis*. U tohoto druhu byly reportovány různé počty chromozomů ($2n_{\text{♀}} = 34\text{--}39$ podle Cohen a Roth, 1970) a dokonce existují i triploidní klonální linie (Parker a Niklasson, 1995).

V několika případech byly k dispozici také různé morfotypy v rámci jednoho druhu. U druhu *Byrsotria fumigata* (Blaberidae: Blaberinae) se vyskytují brachypterní a makropterní formy samců, jejich velikosti genomu se však podle našich výsledků liší jen minimálně (viz Tabulka 2). Dvě formy samců se vyskytují také v chovu druhu *Gyna lurida* (Blaberidae: Gyninae), přičemž žlutě zbarvený samec má o něco větší genom oproti hnědému, rozdíl však ani zde není nijak markantní (0,09 pg, viz Tabulka 2). Nejzajímavější jsou výsledky u druhu *Therea olegrandjeani* (Corydiidae: Corydiinae), v jehož populaci se vyskytují dvě velikostní formy samců i samic. Tento druh má ze studovaných švábů zatím největší genom a absolutní rozdíl mezi morfotypy je také poměrně velký – přes půl pikogramu (relativní rozdíl vzhledem k velikosti genomu už tak nápadný není). Zajímavé je, že velký samec má větší genom než malý samec, avšak u samic je tomu přesně obráceně (viz Tabulka 3).

Je také možné, že u některých druhů existuje větší variabilita ve velikostech genomu, než jsme byli schopni zachytit. Vnitrodruhové rozdíly byly zachyceny například u potměnků rodu *Tribolium* (Alvarez-Fuster et al., 1991), pro většinu hmyzu se známou velikostí genomu však takovéto srovnání zatím neproběhlo. V ideálním případě by pro výzkum vnitrodruhové variability bylo třeba sehnat jedince z různých laboratorních chovů a různých přírodních populací a z každé populace analyzovat násobně větší počet jedinců. Úspěch takového výzkumu by samozřejmě závisel na spolupráci řady vědců, případně chovatelů, kteří by poskytli své sběry a chovy jako zdroj materiálu.

Zjištění velikosti genomu pomocí průtokové cytometrie může přispět i k odhalení dosud neznámé variability v rámci druhu nebo k odhalení druhů kryptických, jak ve své studii demonstrovali už Panzera et al. (2006) na zákeřnici druhu *Triatoma dimidiata*. Zde jako příklad můžeme uvést druhy *Rhabdoblatta* sp. PNG1 a *Rhabdoblatta* sp. PNG2 (Blaberidae:

Epilamprinae), které byly v chovu původně považovány za totožný druh. Při prvním měření samce a samice vyšel překvapivě jako větší samčí genom a po proměření dalších jedinců z populace bylo zjištěno, že se obě pohlaví vyskytují ve dvou variantách velikosti genomu a populace je tedy patrně tvořena dvěma druhy. Po bližším prozkoumání byly zjištěny i jisté morfologické rozdíly mezi těmito dvěma druhy. Prostá informace o velikosti genomu nás tedy může upozornit na skrytou variabilitu, která stojí za bližší prozkoumání.

Velikost genomu by mohla pomoci při determinaci do druhu také u rodu *Blaberus*, jehož druhy jsou morfologicky rozlišitelné jen velmi obtížně. Jelikož podle zde prezentovaných výsledků je variabilita ve velikosti genomu u tohoto rodu poměrně značná ($2C = 9,04\text{--}14,26\text{ pg}$), mohlo by se jednat o užitečný determinační znak.

5.5 Srovnání výsledků s literaturou

Z celkem 147 druhů švábů využitých v této práci bylo 30 druhů již dříve zkoumáno jinými autory (viz Tabulka 6). Většina těchto dat byla získávána denzitometricky a výsledky byly reportovány vesměs jako 1C-hodnoty (pro srovnání s mými daty je tedy bylo třeba vynásobit dvěma).

Tabulka 6 – Srovnání dosud publikovaných velikostí genomu švábů s velikostmi genomu stanovenými v této práci.

Pohlaví: F – samice, M – samec, ? – neznámé

Metoda: FCM – průtoková cytometrie, FD – Feulgenova denzitometrie, FIAD – Feulgenova denzitometrie s analýzou obrazu

Standard: GD – *Gallus domesticus*, OM – *Oncorhynchus mykiss*, DM – *Drosophila melanogaster*, MD – *Musca domestica*, DV – *Drosophila virilis*

Zdroj: 1 – Kelly (2018), 2 – Koshikawa et al. (2008), 3 – Rasch (nepublikováno, cit. Gregory, 2020), 4 – Bier a Müller (1969), 5 – Hanrahan a Johnston (2011)

Druh	Pohlaví	Metoda	Standard	Zdroj	2C (pg) podle zdroje	2C ♀ podle této práce	2C ♂ podle této práce
<i>Blaberus colloseus</i>	?	FIAD	GD, OM	1	8,16	9,65	9,43
<i>Blaberus craniifer</i>	?	FIAD	GD, OM	1	7,72	9,28	9,04
<i>Blaberus discoidalis</i>	?	FIAD	GD, OM	1	9,64	9,77	-
<i>Blaptica dubia</i>	?	FIAD	GD, OM	1	9,54	10,49	9,96
<i>Blaptica dubia</i>	F	FIAD	DM	2	9,38	10,49	9,96
<i>Blaptica dubia</i>	M	FIAD	DM	2	8,8	10,49	9,96
<i>Blatta orientalis</i>	?	FD	GD, OM	3	6,06	8,23	7,77
<i>Blattella germanica</i>	?	FD	MD	4	4,00	4,73	4,53
<i>Blattella vaga</i>	?	FIAD	GD, OM	1	6,88	6,93	6,6
<i>Compsodes schwarzi</i>	?	FIAD	GD, OM	1	6,78	4,78	4,65

Druh	Pohlaví	Metoda	Standard	Zdroj	2C (pg) podle zdroje	2C ♀ podle této práce	2C ♂ podle této práce
<i>Elliptorhina javanica</i>	?	FIAD	GD, OM	1	5,96	7,61	7,35
<i>Epilampra maya</i>	?	FIAD	GD, OM	1	8,42	9,55	9,35
<i>Ergaula pilosa</i>	?	FIAD	GD, OM	1	19,16	31,75	-
<i>Eublaberus sp. Ivory</i>	?	FIAD	GD, OM	1	12,04	13,80	13,30
<i>Eurycotis lixa</i>	?	FIAD	GD, OM	1	8,12		8,40
<i>Gromphadorhina portentosa</i>	?	FIAD	GD, OM	1	6,64	7,97	7,59
<i>Gyna cafferorum</i>	?	FIAD	GD, OM	1	3,88	3,73	3,58
<i>Gyna centurio</i>	?	FIAD	GD, OM	1	4,02	4,39	4,2
<i>Gyna lurida</i>	?	FIAD	GD, OM	1	4,58	4,62	4,71
<i>Hemiblabea tenebriocsa</i>	?	FIAD	GD, OM	1	6,90	8,39	8,70
<i>Henschoutedenia flexivitta</i>	?	FIAD	GD, OM	1	13,58	16,31	15,49
<i>Ischnoptera rufa</i>	?	FIAD	GD, OM	1	5,60	6,18	6,10
<i>Nauphoeta cinerea</i>	F	FIAD	DM	2	10,32	10,84	10,63
<i>Nauphoeta cinerea</i>	M	FIAD	DM	2	10,28	10,84	10,63
<i>Panchlora nivea</i>	?	FIAD	GD, OM	1	3,20	4,45	4,24
<i>Panchlora nivea</i>	?	FCM	DV (F)	5	3,04	4,45	4,24
<i>Parcoblatta fulvescens</i>	?	FIAD	GD, OM	1	7,64	7,92	8,08
<i>Periplaneta americana</i>	?	FD	GD, OM	3	5,44	7,71	7,56
<i>Periplaneta americana</i>	F, M	FCM	GD (M)	5	6,82	7,71	7,56
<i>Periplaneta australasiae</i>	?	FIAD	GD, OM	1	10,4	11,76	11,14
<i>Periplaneta fuliginosa</i>	?	FIAD	GD, OM	1	9,06	10,52	10,05
<i>Pycnoscelus femapterus</i>	?	FIAD	GD, OM	1	11,14	13,38	12,82
<i>Pycnoscelus nigra</i>	?	FIAD	GD, OM	1	14,98	17,44	-
<i>Pycnoscelus striatus</i>	?	FIAD	GD, OM	1	5,68	5,66	5,85
<i>Schultesia lampyridiformis</i>	?	FIAD	GD, OM	1	8,22	8,43	8,13

Několik málo druhů bylo do této chvíle zkoumáno i více autory. Pro druh *Periplaneta americana* byla reportována nejprve 2C-hodnota 5,44 pg (Rasch, nepublikováno, cit. Gregory /2020/). Není jasné, z jakého roku tento údaj pochází, nicméně vzhledem k použití Feulgenovy denzitometrie bez využití obrazové analýzy se domnívám, že bude spíše staršího data. Oproti

tomu Hanrahan a Johnston (2011) uvádějí u tohoto druhu vyšší 2C-hodnotu: 6,82 pg. Za zmínku stojí také fakt, že jejich hodnoty vychází stejně pro samce i samici (respektive se zanedbatelným rozdílem). To je v rozporu s mým pozorováním, že velikost genomu samice je vždy o něco vyšší. Pohlavní rozdíl u tohoto druhu v mé práci sice nevychází nijak extrémní, ale je statisticky signifikantní (viz Tabulka 4). Dvakrát měřeny byly také druhy *Blaptica dubia* a *Panchlora nivea*, i zde se výsledky jednotlivých autorů o něco liší.

Ve většině případů jsou mnou naměřené hodnoty velikostí genomu o něco vyšší než výsledky z literatury. Důvodů může být několik. Jako zásadní vidím vliv použité metody. Denzitometrické postupy jsou náchylnější k chybám a výsledky této metody jsou proto považovány za méně spolehlivé (Doležel et al., 2007b, Greilhuber, 2008). Samozřejmě ale vždy záleží na konkrétní použité metodice.

Dalším kritickým bodem je výběr standardu (viz také kapitola 5.1.4). Například použití druhu *Drosophila melanogaster* jako standardu zde nevidím jako nejšťastnější řešení, vzhledem k tomu, že vykazuje poměrně malou velikost genomu v porovnání se šváby, jak již bylo zmíněno výše. Příliš malý standard může negativně ovlivnit přesnost měření. Kromě toho některé používané standardy nemají stabilní velikost genomu (Johnston et al., 1999) a problémem stále zůstává jejich vzájemná kalibrace (Urfus, 2020, pers. comm.).

Svou roli může hrát i typ použité tkáně. Autoři těchto studií použili nejčastěji hemolymfu, nervovou tkáň, svalovou tkáň a v jednom případě i spermie. Kelly (2018) udává, že buňky různých typů jím zkoumaných tkání (hemolymfa, nervová tkáň, noha), se od sebe co do velikosti genomu signifikantně nelišily, z jeho práce však není jasné, kolika druhů či jedinců se toto srovnání týká. Hanrahan a Johnston (2011) například uvádějí, že pokud je při homogenizaci nervové tkáně z hlavy do vzorku zahrnuto i oko, pak je kvalita výsledků horší.

Vliv může mít i konkrétní populace, z které zkoumaní jedinci pocházeli. V případě dlouho chovaných laboratorních linií se může snadno projevit efekt zakladatele a genetický drift může ovlivnit i velikost genomu. Rozdíl ve velikostech genomu mezi různými laboratorními liniemi byl prokázán například u klasického modelového druhu octomilky *Drosophila melanogaster* (Ellis et al., 2014). Jako příklad z této práce může sloužit druh *Eurycotis opaca*, jehož dvě populace se od sebe lišily o 0,77 pg (rozdíl 2C-hodnoty samic, viz Tabulka 2), což rozhodně není zanedbatelný rozdíl. Pokud bychom chtěli tuto možnost vyloučit, bylo by zapotřebí mezi sebou srovnat jedince z dlouhodobě chovaných linií z různých laboratoří světa. Lišit se mezi sebou ale můžou i různé přírodní populace jednoho druhu (Nardon et al., 2005, Sharaf et al., 2010, Jacobson et al., 2013).

Osobně si myslím, že rozdíl v mých výsledcích a výsledcích jiných autorů je způsobem pravděpodobně souhrou více z výše uvedených faktorů. Rozdíly mezi velikostmi genomu naměřenými různými autory za pomoci různých metod a s využitím různých standardů se mohou lišit poměrně zásadně, jak ukazují například data na korýších: *Daphnia pulex* (1C = 0,24–0,49 pg), *Procambarus clarkii* (1C = 4,20–6,20 pg), *Cyclops strenuus* (1C = 0,18–0,90 pg) (Gregory, 2020). V těchto případech je samozřejmě složité odlišit, zda je na vině vnitrodruhová variabilita (případně i špatná determinace druhu), metodika či kombinace obojího. Tento rozpor nicméně otevírá otázku, jak moc jsou mezi sebou srovnatelné výsledky z různých laboratoří a získané různými metodami.

6 Závěr

Tato diplomová práce se věnovala studiu velikosti genomu u švábů (Blattodea) za využití metody průtokové cytometrie.

Primárním cílem této práce bylo rozšířit soubor dat známých velikostí genomu o co největší množství druhů z řádu švábů. Podařilo se stanovit velikost genomu pro celkem 147 druhů, přičemž u 117 druhů se jedná o zcela nové údaje. Z hlediska fylogeneze byly zastoupeny všechny tři nadčeledi a většina čeledí a hlavních podčeledí.

U 125 druhů se podařilo zjistit velikosti genomu u obou pohlaví. Jedná se tak o dosud nejrozsáhlejší studii věnující se pohlavním rozdílům ve velikosti genomu u hmyzu. U více než třetiny analyzovaných druhů byl pohlavní rozdíl statisticky signifikantní. Tento výsledek tak potvrzuje nutnost determinace a striktního uvádění pohlaví při publikaci výsledků výzkumu velikostí genomu u živočichů.

Velikosti genomů byly také porovnány se známou fylogenezí. Přestože fylogeneze Blattodea není v mnoha ohledech stále dořešená, podařilo se odhalit některé zajímavé trendy. Velikost genomu zřejmě významně souvisí s evoluční historií druhu a signifikantně se liší mezi jednotlivými nadčeledmi a podčeledmi. Vzorce změn velikosti genomu se pak liší u jednotlivých skupin. Velmi početná čeleď Ectobiidae vykazuje poměrně malé velikosti genomu, je tedy možné, že malý obsah DNA byl v tomto případě evoluční výhodou. Naopak u poměrně malé čeledi Corydiidae se u odvozených linií setkáváme s prudkým nárůstem množství DNA a skutečným vítězem pomyslné soutěže o největší genom je pak druh *Therea olegrandjeani*, který s 2C-hodnotou 35,17 pg poráží i dosud největší publikovaný hmyzí genom. Například u podčeledi Oxyhaloinae (Blaberidae) pak velikost genomu souvisí s geografickým rozšířením druhů a snížení velikosti genomu u madagaskarské linie je zřejmě způsobeno rozpadem chromozomů. U několika druhů bylo také provedeno srovnání jedinců z různých lokalit, jež odhalilo určité vnitrodruhové rozdíly, kterým by bylo dobré v dalším výzkumu věnovat pozornost.

Tato práce tedy přispívá novými daty k výzkumu velikosti genomu živočichů a je i krůčkem kupředu při objasňování tzv. C-value enigmy.

Průtoková cytometrie se ukázala být užitečným nástrojem pro výzkum hmyzu, přesto však má tato metoda (a výzkum velikosti genomu obecně) některá slabší místa, která zde také rozebírám.

7 Seznam použité literatury

- Adams, M.D., Celniker, S.E., Holt, R.A., Evans, C.A., Gocayne, J.D., Amanatides, P.G., Scherer, S.E., Li, P.W., Hoskins, R.A., Galle, R.F., et al. (2000). The Genome Sequence of *Drosophila melanogaster*. 287, 2185–2196.
- Adan, A., Alizada, G., Kiraz, Y., Baran, Y., a Nalbant, A. (2016). Flow cytometry: basic principles and applications. *Crit. Rev. Biotechnol.* 8551, 1–14.
- Alvarez-Fuster, A., Juan, C., a Petitpierre, E. (1991). Genome size in *Tribolium* flour-beetles: Inter-and intraspecific variation. *Genet. Res.* 58, 1–5.
- Ardila-Garcia, A.M., Umphrey, G.J., a Gregory, T.R. (2010). An expansion of the genome size dataset for the insect order Hymenoptera, with a first test of parasitism and eusociality as possible constraints. *Insect Mol. Biol.* 19, 337–346.
- Aron, S., De Menten, L., a Van Bockstaele, D. (2003). Brood sex ratio determination by flow cytometry in ants. *Mol. Ecol. Notes* 3, 471–475.
- Beaulieu, J.M., Leitch, I.J., Patel, S., Pendharkar, A., a Knight, C.A. (2008). Genome size is a strong predictor of cell size and stomatal density in angiosperms. *New Phytol.* 179, 975–986.
- Beccaloni, G.W. (2020). Cockroach Species File Online. Version 5.0/5.0. Online: <http://Cockroach.SpeciesFile.org> [zprístupněno 29. 5. 2020].
- Bell, W.J., Roth, L.M., a Nalepa, C.A. (2007). *Cockroaches: Ecology, Behaviour and Natural History* (Baltimore: The Johns Hopkins University Press).
- Bennett, M.D. (1971). The duration of meiosis. *Proc. R. Soc. London. Ser. B.* 178, 277–299.
- Bennett, M.D., a Leitch, I.J. (2020). Plant DNA C-values Database (release 7.1, April 2019). Royal Botanic Gardens, Kew, UK. Online: <http://data.kew.org/cvalues/> [zprístupněno 1. 8. 2020].
- Bier, K., a Müller, W. (1969). DNA-Messungen bei Insekten und eine Hypothese ber retardierte Evolution und besonderen DNA-Reichtum in Tierreich. *Biol. Zent. Bl.* 88, 425–449.
- Blackmon, H., Ross, L., a Bachtrog, D. (2017). Sex determination, sex chromosomes, and karyotype evolution in insects. *J. Hered.* 108, 78–93.
- Bourguignon, T., Tang, Q., Ho, S.Y.W., Juna, F., Wang, Z., Arab, D.A., Cameron, S.L., Walker, J., Rentz, D., Evans, T.A., et al. (2018). Transoceanic dispersal and plate tectonics shaped global cockroach distributions: Evidence from mitochondrial phylogenomics. *Mol. Biol. Evol.* 35, 970–983.
- C. elegans Sequencing Consortium (1998). Genome Sequence of the Nematode *C. elegans*: A Platform for Investigating Biology. *Science* (80-.). 282, 2012–2018.
- Camacho, J.P.M. (2016). Comment on Schielzeth et al. (2014): “Genome size variation affects song attractiveness in grasshoppers: Evidence for sexual selection against large genomes”. *Evolution* (N. Y). 70, 1428–1430.

- Cameron, S.L., Lo, N., Bourguignon, T., Svenson, G.J., a Evans, T.A. (2012). A mitochondrial genome phylogeny of termites (Blattodea: Termitoidae): Robust support for interfamilial relationships and molecular synapomorphies define major clades. *Mol. Phylogenet. Evol.* 65, 163–173.
- Canon, N.R., Tell, L.A., Needham, M.L., a Gardner, I.A. (2000). Flow cytometric analysis of nuclear DNA for sex identification in three psittacine species. *Am. J. Vet. Res.* 61, 847–850.
- Christenhusz, M.J.M., a Byng, J.W. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. *Phytotaxa* 261, 201–217.
- Cohen, S., a Roth, L.M. (1970). Chromosome Numbers of the Blattaria. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 63, 1520–1547.
- Cornette, R., Gusev, O., Nakahara, Y., Shimura, S., Kikawada, T., a Okuda, T. (2015). Chironomid Midges (Diptera, Chironomidae) Show Extremely Small Genome Sizes. *Zoolog. Sci.* 32, 248–254.
- Corradi, N., Pombert, J.F., Farinelli, L., Didier, E.S., a Keeling, P.J. (2010). The complete sequence of the smallest known nuclear genome from the microsporidian *Encephalitozoon intestinalis*. *Nat. Commun.* 1.
- Cournault, L., a Aron, S. (2008). Rapid determination of sperm number in ant queens by flow cytometry. *Insectes Soc.* 283–287.
- Craddock, E.M., Gall, J.G., a Jonas, M. (2016). Hawaiian *Drosophila* genomes: size variation and evolutionary expansions. *Genetica* 144, 107–124.
- Djernæs, M. (2018). Biodiversity of Blattodea - the Cockroaches and Termites. In *Insect Biodiversity: Science and Society*, R.B. Footitt, a P.H. Adler, ed. (Wiley-Blackwell), s. 359–387.
- Djernæs, M., Klass, K.D., Picker, M.D., a Damgaard, J. (2012). Phylogeny of cockroaches (Insecta, Dictyoptera, Blattodea), with placement of aberrant taxa and exploration of out-group sampling. *Syst. Entomol.* 37, 65–83.
- Djernæs, M., Klass, K.D., a Eggleton, P. (2015). Identifying possible sister groups of Cryptocercidae+Isoptera: A combined molecular and morphological phylogeny of Dictyoptera. *Mol. Phylogenet. Evol.* 84, 284–303.
- Djernæs, M., Varadínová, Z.K., Kotyk, M., Eulitz, U., a Klass, K.D. (2020). Phylogeny and life history evolution of Blaberoidea (Blattodea). *Arthropod Syst. Phylogeny* 78, 29–67.
- Doležel, J., a Bartoš, J. (2005). Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. *Ann. Bot.* 95, 99–110.
- Doležel, J., a Greilhuber, J. (2010). Nuclear genome size: Are we getting closer? *Cytom. Part A* 77, 635–642.
- Doležel, J., Sgorbati, S., a Lucretti, S. (1992). Comparison of three DNA fluorochromes for flow cytometric estimation of nuclear DNA content in plants. *Physiol. Plant.* 85, 625–631.
- Doležel, J., Greilhuber, J., Meister, A., Lysák, M.A., Nardi, L., Obermayer, R., a

Lucretti, S. (1998). Plant Genome Size Estimation by Flow Cytometry: Inter-laboratory Comparison. *Ann. Bot.* 82, 17–26.

Doležel, J., Bartoš, J., Voglmayr, H., a Greilhuber, J. (2003). Nuclear DNA Content and Genome Size od Trout and Human. *Cytom. Part A* 51A, 127–128.

Doležel, J., Greilhuber, J., a Suda, J. (2007a). *Flow Cytometry with Plant Cells* (Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH).

Doležel, J., Greilhuber, J., a Suda, J. (2007b). Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. *Nat. Protoc.* 2, 2233–2244.

Driscoll, T.P., Verhoeve, V.I., Gillespie, J.J., Johnston, J.S., Guillotte, M.L., Rennoll-Bankert, K.E., Rahman, M.S., Hagen, D., Elsik, C.G., Macaluso, K.R., et al. (2020). A chromosome-level assembly of the cat flea genome uncovers rampant gene duplication and genome size plasticity. *BMC Biol.* 18, 70.

Elliott, T.A., a Gregory, T.R. (2015). What's in a genome? The C-value enigma and the evolution of eukaryotic genome content. *Philos. Trans. R. Soc. B* 370.

Ellis, L.L., Huang, W., Quinn, A.M., Ahuja, A., Alfrejd, B., Gomez, F.E., Hjelman, C.E., Moore, K.L., Mackay, T.F.C., Johnston, J.S., et al. (2014). Intrapopulation Genome Size Variation in *D. melanogaster* Reflects Life History Variation and Plasticity. *PLoS Genet.* 10.

Evangelista, D.A., Wipfler, B., Béthoux, O., Donath, A., Fujita, M., Kohli, M.K., Legendre, F., Liu, S., Machida, R., Misof, B., et al. (2019). An integrative phylogenomic approach illuminates the evolutionary history of cockroaches and termites (Blattodea). *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 286.

Fernando, W. (1957). *Sphecophila ravana*, sp. n., a new Termitophilous cockroach from Ceylon. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 10, 81–84.

Gandhi Gracy, R., Basavaarya, B.R., Kariyanna, B., Arunkumara, C.G., Jalali, S.K., Venkatesan, T., Ballal, C.R., a Mohan, M. (2019). The relationship between genome size, morphological parameters and diet breadth in insect species. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 20, 101188.

Gassner, M., Dejaco, T., Schoenswetter, P., Marec, F., Arthofer, W., Schlick-Steiner, B.C., a Steiner, F.M. (2014). Extensive variation in chromosome number and genome size in sexual and parthenogenetic species of the jumping-bristletail genus *Machilis* (Archaeognatha). *Ecol. Evol.* 4, 4093–4105.

Ghiselli, F., Milani, L., Scali, V., a Passamonti, M. (2007). The *Leptynia hispanica* species complex (Insecta Phasmida): Polyploidy, parthenogenesis, hybridization and more. *Mol. Ecol.* 16, 4256–4268.

Gillooly, J.F., Hein, A., a Damiani, R. (2015). Nuclear DNA content varies with cell size across human cell types. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 7, 1–27.

Gregory, T.R. (2001a). Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cellsize, and the C-value enigma. *Biol. Rev.* 76, 65–101.

Gregory, T.R. (2001b). The bigger the C-value, the larger the cell: Genome size and red blood cell size in vertebrates. *Blood Cells, Mol. Dis.* 27, 830–843.

Gregory, T.R. (2002). Genome size and developmental complexity. *Genetica* 115, 131–146.

Gregory, T.R. (2005). The C-value enigma in plants and animals: A review of parallels and an appeal for partnership. *Ann. Bot.* 133–146.

Gregory, T.R. (2020). Animal Genome Size Database. Online: <http://genomesize.com> [zpřístupněno 17. 7. 2020].

Gregory, T.R., a DeSalle, R. (2005). Comparative genomics in Prokaryotes. In *The Evolution of the Genome*, s. 557–587.

Gregory, T.R., Hebert, P.D.N., a Kolasa, J. (2000). Evolutionary implications of the relationship between genome size and body size in flatworms and copepods. *Heredity (Edinb.)* 84, 201–208.

Gregory, T.R., Nathwani, P., Bonnett, T.R., a Huber, D.P.W. (2013). Sizing up arthropod genomes: an evaluation of the impact of environmental variation on genome size estimates by flow cytometry and the use of qPCR as a method of estimation. *Genome* 56, 505–510.

Greilhuber, J. (2008). Cytochemistry and C-values: The Less-well-known World of Nuclear DNA Amounts. *Ann. Bot.* 101, 791–804.

Greilhuber, J., a Baranyi, M. (1999). Feulgen Densitometry : Importance of a Stringent Hydrolysis Regime. *Plant Biol.* 1, 538–540.

Greilhuber, J., Doležel, J., Lysák, M.A., a Bennett, M.D. (2005). The origin, evolution and proposed stabilization of the terms „genome size" and „C-value" to describe nuclear DNA contents. *Ann. Bot.* 255–260.

Greilhuber, J., Temsch, E.M., a Loureiro, J.C.M. (2007). Nuclear DNA Content Measurement.

Hanrahan, S.J., a Johnston, J.S. (2011). New genome size estimates of 134 species of arthropods. *Chromosom. Res.* 19, 809–823.

Hardie, D.C., Gregory, T.R., a Hebert, P.D.N. (2002). From Pixels to Picograms: A Beginners' Guide to Genome Quantification by Feulgen Image Analysis Densitometry. *J. Histochem. Cytochem.* 50, 735–749.

Hare, E.E., a Johnston, J.S. (2011). Genome size determination using flow cytometry of propidium iodide-stained nuclei. *Methods Mol. Biol.* 772, 3–12.

He, K., Lin, K., Wang, G., a Li, F. (2016). Genome Sizes of Nine Insect Species Determined by Flow Cytometry and k-mer Analysis. *Front. Physiol.* 7, 1–7.

Hidalgo, O., Pellicer, J., Christenhusz, M., Schneider, H., Leitch, A.R., a Leitch, I.J. (2017). Is There an Upper Limit to Genome Size? *Trends Plant Sci.* 22, 567–573.

Hinegardner, R.T. (1971). An improved fluorometric assay for DNA. *Anal. Biochem.* 39, 197–201.

Hu, D., Zhong, M., Zhang, X., a Yao, Y. (2014). Self-organized aggregation based on cockroach behavior in swarm robotics. In *6th International Conference on Intelligent Human-*

Machine Systems and Cybernetics, IHMSC 2014, s. 349–354.

Hutchison, C.A., Chuang, R.Y., Noskov, V.N., Assad-Garcia, N., Deerinck, T.J., Ellisman, M.H., Gill, J., Kannan, K., Karas, B.J., Ma, L., et al. (2016). Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science* (80-.). 351.

Inward, D., Beccaloni, G., a Eggleton, P. (2007). Death of an order: a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches. *Biol. Lett.* 3, 331–335.

Jacobson, A.L., Johnston, J.S., Rotenberg, D., Whitfield, A.E., Booth, W., Vargo, E.L., a Kennedy, G.G. (2013). Genome size and ploidy of Thysanoptera. *Insect Mol. Biol.* 22, 12–17.

Jimenez, A.G., Kinsey, S.T., Dillaman, R.M., a Kapraun, D.F. (2010). Nuclear DNA content variation associated with muscle fiber hypertrophic growth in decapod crustaceans. *Genome* 53, 161–171.

Johnston, J.S., Bennett, M.D., Rayburn, A.L., Galbraith, D.W., a Price, H.J. (1999). Reference standards for determination of DNA content of plant nuclei - flow cytometry. *Am. J. Bot.* 86, 609–613.

Kasahara, M. (2007). The 2R hypothesis: an update. *Curr. Opin. Immunol.* 19, 547–552.

Kelly, D.J. (2018). A Survey of Genome Size Diversity Within Scale Insects Hemiptera : Coccoidea) and Cockroaches and Termites (Blattodea). Guelph 2018. Diplomová práce. University of Guelph, Department of Integrative Biology. T. Ryan Gregory Ph.D. Dostupné z: <https://atrium.lib.uoguelph.ca/xmlui/handle/10214/12989>.

Kidwell, M.G. (2002). Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. *Genetica* 115, 49–63.

Klass, K.-D., a Meier, R. (2006). A phylogenetic analysis of Dictyoptera (Insecta) based on morphological characters. *Entomol. Abhandlungen* 63, 3–50.

Klass, K.D., Nalepa, C., a Lo, N. (2008). Wood-feeding cockroaches as models for termite evolution (Insecta: Dictyoptera): *Cryptocercus* vs. *Parasphaeria boleiriana*. *Mol. Phylogenet. Evol.* 46, 809–817.

Koshikawa, S., Miyazaki, S., Cornette, R., Matsumoto, T., a Miura, T. (2008). Genome size of termites (Insecta, Dictyoptera, Isoptera) and wood roaches (Insecta, Dictyoptera, Cryptocercidae). *Naturwissenschaften* 95, 859–867.

Kron, P., Suda, J., a Husband, B.C. (2007). Applications of Flow Cytometry to Evolutionary and Population Biology. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 847–876.

Lee, H.O., Davidson, J.M., a Duronio, R.J. (2009). Endoreplication : polyploidy with purpose. *Genes Dev.* 23, 2461–2477.

Legendre, F., Nel, A., Svenson, G.J., Robillard, T., Pellens, R., a Grandcolas, P. (2015). Phylogeny of dictyoptera: Dating the origin of cockroaches, praying mantises and termites with molecular data and controlled fossil evidence. *PLoS One* 10, 1–27.

Legendre, F., Grandcolas, P., a Thouzé, F. (2017). Molecular phylogeny of Blaberidae

(Dictyoptera, Blattodea) with implications for taxonomy and evolutionary studies. *Eur. J. Taxon.* 1–13.

Li, F., Zhao, X., Li, M., He, K., Huang, C., Zhou, Y., Li, Z., a Walters, J.R. (2019). Insect genomes: progress and challenges. *Insect Mol. Biol.* 28, 739–758.

Lo, N., Tokuda, G., Watanabe, H., Rose, H., Slaytor, M., Maekawa, K., Bandi, C., a Noda, H. (2000). Evidence from multiple gene sequences indicates that termites evolved from wood-feeding cockroaches. *Curr. Biol.* 10, 801–804.

Lo, N., Bandi, C., Watanabe, H., Nalepa, C., a Beninati, T. (2003). Evidence for cocladogenesis between diverse dictyopteran lineages and their intracellular endosymbionts. *Mol. Biol. Evol.* 20, 907–913.

Loureiro, J., Rodriguez, E., Doležel, J., a Santos, C. (2006). Flow Cytometric and Microscopic Analysis of the Effect of Tannic Acid on Plant Nuclei and Estimation of DNA Content. *Ann. Bot.* 98, 515–527.

Ma, X.F., a Gustafson, J.P. (2005). Genome evolution of allopolyploids: A process of cytological and genetic diploidization. *Cytogenet. Genome Res.* 109, 236–249.

Macey, M.G. (2007). *Flow Cytometry - Principles and Applications* (Totowa, N.J.: Humana Press).

del Mar Ochoa-Saloma, C., Jenkins, J.A., Segovia, M.A., Del Rio-Portilla, M.A., a Paniagua-Chávez, C.G. (2020). Establishing genome sizes of focal fishery and aquaculture species along Baja California, Mexico. *Conserv. Genet. Resour.* 12, 301–309.

Matsubayashi, K.W., a Ohshima, I. (2015). Genome size increase in the phytophagous ladybird beetle *Henosepilachna vigintioctomaculata* species complex (Coleoptera: Coccinellidae). *Entomol. Sci.* 18, 134–137.

Maumus, F., Fiston-Lavier, A.S., a Quesneville, H. (2015). Impact of transposable elements on insect genomes and biology. *Curr. Opin. Insect Sci.* 7, 30–36.

McKittrick, F.A. (1964). *Evolutionary studies of cockroaches* (Memoirs of the Cornell University Agricultural Experiment Station).

Murienne, J. (2009). Molecular data confirm family status for the *Tryonicus-Lauraesilpha* group (Insecta: Blattodea: Tryonicidae). *Org. Divers. Evol.* 9, 44–51.

Nagesh Rao, P., a Rai, K.S. (1987). Inter and intraspecific variation in nuclear DNA content in aedes mosquitoes. *Heredity (Edinb.)* 59, 253–258.

Nakamura, D., Tiersch, T.R., Douglas, M., a Chandler, R.W. (1990). Rapid identification of sex in birds by flow cytometry. *Cytogenet. Cell Genet.* 53, 201–205.

Nardon, C., Deceliere, G., Løevenbruck, C., Weiss, M., Vieira, C., a Biémont, C. (2005). Is genome size influenced by colonization of new environments in dipteran species? *Mol. Ecol.* 869–878.

Nath, S., Mallick, S.K., a Jha, S. (2014). An improved method of genome size estimation by flow cytometry in five mucilaginous species of Hyacinthaceae. *Cytom. Part A* 85, 833–840.

Noirot, M., Barre, P., Louarn, J., Duperray, C., a Hamon, S. (2002). Consequences of stoichiometric error on nuclear DNA content evaluation in *Coffea liberica* var. *dewevrei* using DAPI and propidium iodide. *Ann. Bot.* 89, 385–389.

Normark, B.B. (1996). Polyploidy of Parthenogenetic *Aramigus tessellatus* (Say) (Coleoptera: Curculionidae). *Coleopt. Bull.* 50, 73–79.

Oziolor, E.M., Gregory, T.R., Bickham, J.W., St. Leger, J., a Matson, C.W. (2019). Cetacean genome size diversity. *Mar. Mammal Sci.* 35, 1133–1140.

Palmer, M.J., Bantle, J.A., Guo, X., a Fargoxy1, W.S. (1994). Genome size and organization in the ixodid tick *Amblyomma americanum* (L.). *Insect Mol. Biol.* 3, 57–62.

Panzer, F., Ferrandis, I., Ramsey, J., Ordóñez, R., Salazar-Schettino, P.M., Cabrera, M., Monroy, M.C., Barges, M.D., Mas-Coma, S., O'Connor, J.E., et al. (2006). Chromosomal variation and genome size support existence of cryptic species of *Triatoma dimidiata* with different epidemiological importance as Chagas disease vectors. *Trop. Med. Int. Heal.* 2, 1092–1103.

Parker, E.D., a Niklasson, M. (1995). Desiccation resistance among clones in the invading parthenogenetic cockroach, *Pycnoscelus surinamensis*: A search for the general-purpose genotype. *J. Evol. Biol.* 8, 331–337.

Pedersen, R.A. (1971). DNA content, ribosomal gene multiplicity, and cell size in fish. *J. Exp. Zool.* 177, 65–78.

Pellens, R., D'Haese, C.A., Bellés, X., Piulachs, M.D., Legendre, F., Wheeler, W.C., a Grandcolas, P. (2007). The evolutionary transition from subsocial to eusocial behaviour in Dictyoptera: Phylogenetic evidence for modification of the „shift-in-dependent-care" hypothesis with a new subsocial cockroach. *Mol. Phylogenet. Evol.* 43, 616–626.

Pellicer, J., Fay, M.F., a Leitch, I.J. (2010). The largest eukaryotic genome of them all? *Bot. J. Linn. Soc.* 164, 10–15.

Phillips, Z.I., Zhang, M.M., a Mueller, U.G. (2017). Dispersal of *Attaphila fungicola*, a symbiotic cockroach of leaf-cutter ants. *Insectes Soc.* 64, 277–284.

Picard, C.J., Johnston, J.S., a Tarone, a. M. (2012). Genome Sizes of Forensically Relevant Diptera. *J. Med. Entomol.* 49, 192–197.

Price, H.J., Sparrow, A.H., a Nauman, A.F. (1973). Correlations between nuclear volume, cell volume and DNA content in meristematic cells of herbaceous angiosperms. *Experientia* 29, 1028–1029.

Quinn, R.D., Nelson, G.M., Bachmann, R.J., Kingsley, D.A., Offi, J.T., Allen, T.J., a Ritzmann, R.E. (2003). Parallel complementary strategies for implementing biological principles into mobile robots. *Int. J. Rob. Res.* 22, 169–186.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <http://www.r-project.org/>.

Rees, D.J., Dufresne, F., Glémet, H., a Belzile, C. (2007). Amphipod genome sizes: First estimates for Arctic species reveal genomic giants. *Genome* 50, 151–158.

- Rodrigues, A.S.B., Silva, S.E., Pina-Martins, F., Loureiro, J., Castro, M., Gharbi, K., Johnson, K.P., Dietrich, C.H., Borges, P.A. V., Quartau, J.A., et al. (2016). Assessing genotype-phenotype associations in three dorsal colour morphs in the meadow spittlebug *Philaenus spumarius* (L.) (Hemiptera: Aphrophoridae) using genomic and transcriptomic resources. *BMC Genet.* 17, 144.
- Roth, L.M. (1995). *Pseudoanaplectinia Yumotoi*, A New Ovoviviparous Myrmecophilous Cockroach Genus and Species From Sarawak (Blattaria: Blattellidae; Blattellinae). *Psyche* (New York) 102, 79–87.
- Roux, N., Toloza, A., Radecki, Z., J., Z.-A.F., a Doležal, J. (2003). Rapid detection of aneuploidy in *Musa* using flow cytometry. *Plant Cell Rep.* 21, 483–490.
- Royandazagh, D.S. (2019). Potential of flow cytometry in sex determination and in vitro micropopagation of *Laurus nobilis* L. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 17, 5953–5964.
- RStudio Team (2020). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL: <http://www.rstudio.com/>.
- Sadhu, A., Bhadra, S., a Bandyopadhyay, M. (2016). Novel nuclei isolation buffer for flow cytometric genome size estimation of Zingiberaceae: A comparison with common isolation buffers. *Ann. Bot.* 118, 1057–1070.
- Sadílek, D., Urfus, T., Vilímová, J., a Suda, J. (2019). Nuclear Genome Size in Contrast to Sex Chromosome Number Variability in the Human Bed Bug, *Cimex lectularius* (Heteroptera : Cimicidae). *Cytom. Part A* 95, 1–11.
- Schönswetter, P., Lachmayer, M., Lettner, C., Prehsler, D., Rechnitzer, S., Reich, D.S., Sonnleitner, M., Wagner, I., Hülber, K., Schneeweiss, G.M., et al. (2007a). Sympatric diploid and hexaploid cytotypes of *Senecio carniolicus* (Asteraceae) in the Eastern Alps are separated along an altitudinal gradient. *J. Plant Res.* 120, 721–725.
- Schönswetter, P., Suda, J., Popp, M., Weiss-Schneeweiss, H., a Brochmann, C. (2007b). Circumpolar phylogeography of *Juncus biglumis* (Juncaceae) inferred from AFLP fingerprints, cpDNA sequences, nuclear DNA content and chromosome numbers. *Mol. Phylogenet. Evol.* 42, 92–103.
- Sharaf, K., Horová, L., Pavlíček, T., Nevo, E., a Bureš, P. (2010). Genome size and base composition in *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Sylvanidae) and differences between native (feral) and silo pest populations in Israel. *J. Stored Prod. Res.* 46, 34–37.
- Starostová, Z., Kratochvíl, L., a Flajšhans, M. (2008). Cell size does not always correspond to genome size: Phylogenetic analysis in geckos questions optimal DNA theories of genome size evolution. *Zoology* 111, 377–384.
- Stork, N.E. (2018). How Many Species of Insects and Other Terrestrial Arthropods Are There on Earth? *Annu. Rev. Entomol.* 63, 31–45.
- Stuchlíková, M. (2017). *Průtoková cytometrie a její využití ke studiu hmyzu*. Praha 2017. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta. Mgr. Petr Janšta, Ph.D.
- Suda, J. (2011). *Průtoková cytometrie a její využití v botanice*. *Zprávy České Bot. Společnosti* 25, 21–42.

- Suda, J., a Leitch, I.J. (2010). The quest for suitable reference standards in genome size research. *Cytom. Part A* 77, 717–720.
- Suda, J., a Trávníček, P. (2006). Reliable DNA Ploidy Determination in Dehydrated Tissues of Vascular Plants by DAPI Flow Cytometry — New Prospects for Plant Research. *Cytom. Part A* 280, 273–280.
- Suda, J., Kron, P., Husband, B.C., a Tra, P. (2007). Flow Cytometry and Ploidy : Applications in Plant Systematics , Ecology and Evolutionary Biology. In *Flow Cytometry with Plant Cells: Analysis of Genes, Chromosomes and Genomes*, J. Doležal, J. Greilhuber, a J. Suda, ed. (Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH), s. 103–130.
- Szarski, H. (1976). Cell Size and Nuclear DNA Content in Vertebrates. *Int. Rev. Cytol.* 44, 93–111.
- Temsch, E., Greilhuber, J., a Krisai, R. (2010). Genome size in liverworts. *Preslia* 82, 63–80.
- Treangen, T.J., a Salzberg, S.L. (2012). Repetitive DNA and next-generation sequencing: Computational challenges and solutions. *Nat. Rev. Genet.* 13, 36–46.
- Vanthournout, B., Deswarte, K., Hammad, H., Bilde, T., Lambrecht, B., a Hendrickx, F. (2014). Flow cytometric sexing of spider sperm reveals an equal sperm production ratio in a female-biased species. *Biol. Lett.* 10.
- Wang, Z., Shi, Y., Qiu, Z., Che, Y., a Lo, N. (2017). Reconstructing the phylogeny of Blattodea: Robust support for interfamilial relationships and major clades. *Sci. Rep.* 7, 1–8.
- Wendel, J.F. (2000). Genome evolution in polyploids. *Plant Mol. Biol.* 42, 225–249.
- Westerman, M., Barton, N.H., a Hewitt, G.M. (1987). Differences in DNA content between two chromosomal races of the grasshopper *Podisma pedestris*. *Heredity (Edinb).* 58, 221–228.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. URL: <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wolfe, K.H. (2001). Yesterday's polyploids and the mystery of diploidization. *Nat. Rev. Genet.* 2, 333–341.
- Zhang, S., Gu, S., Ni, X., a Li, X. (2019). Genome size reversely correlates with host plant range in *Helicoverpa* species. *Front. Physiol.* 10, 1–10.